

V 1.2.2

GMTiter™ Luminescent Cell Viability Assay

GMTiter™ 发光法细胞活力检测试剂盒

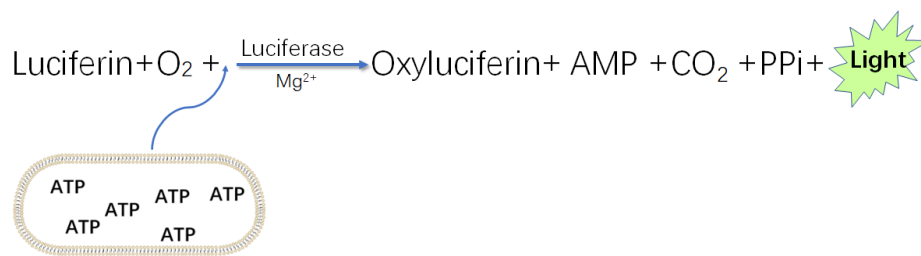
产品信息

产品名称	产品编号	规格	储存
GMTiter™ Luminescent Cell Viability Assay 细胞活力检测试剂盒	GM-040504A	10 ml (100 次)	-80°C
GMTiter™ Luminescent Cell Viability Assay 细胞活力检测试剂盒	GM-040504B	10 ml*10 (1000 次)	-80°C
GMTiter™ Luminescent Cell Viability Assay 细胞活力检测试剂盒	GM-040504C	100 ml (1000 次)	-80°C
GMTiter™ Luminescent Cell Viability Assay 细胞活力检测试剂盒	GM-040504D	100 ml*10 (10000 次)	-80°C

产品描述

生物体细胞内最重要的能量来源是 ATP，是衡量细胞新陈代谢水平的重要指标。在同种细胞，近似的培养条件下，ATP 的含量与活细胞数目具有良好的线性关系。即可通过 ATP 含量反应活细胞的数目。萤火虫萤光素酶 (Firefly luciferase) 是一种分子量约为 61 kDa 的蛋白，在 ATP、镁离子和氧气存在的条件下，其能够把萤光素 (luciferin) 催化成氧化萤光素 (oxyluciferin)，在氧化的过程中会发出波长为 560 nm 左右的生物荧光。即该反应为 ATP 依赖的发光反应。其发光强度与 ATP 含量线性相关。

检测原理如图所示：



GMTiter™ 发光法细胞活力检测试剂盒 (GMTiter™ Luminescent Cell Viability Assay) 的特点是操作非常简便，实验前无需对细胞进行清洗或收集，而且可以直接使用，对细胞的裂解和检测一步完成，省去了混合试剂的步骤，节省了实验时间。且在一定的实验时间内发光值相对稳定，检测结果准确可靠。

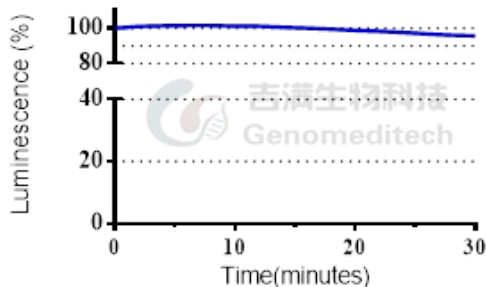


图 2：本产品对人 B 淋巴瘤细胞 30 min 稳定性检测效果 (96 孔板)。细胞数量 10000 个/孔 (悬液)，3 复孔，取均值。

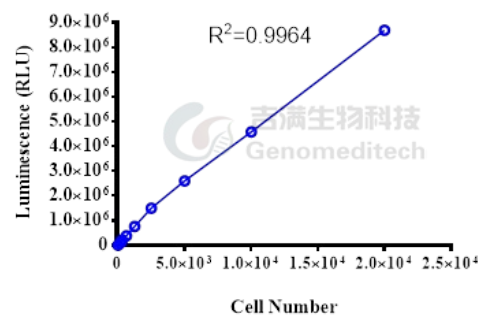


图 3：本产品对人 B 淋巴瘤细胞的检测效果显示线性范围较宽，在 2 万个细胞范围内呈现良好的线性关系。首孔细胞数量 39 个/孔 (悬液)，依次为 78、156、312、625、1250、2500、5000、10000、20000 个/孔。3 复孔，取均值。

注：实际读数会因各种原因存在差异，图中数据仅供参考。

本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途

运输与保存

干冰运输。使用前置于 2-8°C 或室温或 22°C 水浴锅融化，完全恢复室温即可使用。需要注意，融化温度不可超过 25°C 以免影响酶活。

-80°C 避光保存，未开封试剂有效期为一年。如果 -20°C 避光保存，推荐 3-6 个月内使用。拆封后如未用完推荐分装（避光）-80°C 保存。

操作流程（以 96 孔板为例）

实验准备：

1. 主要实验耗材与设备：200 μ L 移液器或者排枪；不透光白色酶标板或黑色酶标板；多功能酶标仪或者其他能够检测生物发光的仪器。
2. 反应温度：酶促反应对温度较为敏感，请将细胞培养板，检测试剂，酶标仪（可在机器设定温度）平衡至室温（最好 20-25°C）时再使用；检测试剂复温环境不能超过 25°C。
3. 检测仪器设置：以 Molecular Devices Spectra Max L 机器为例。PMT Setting（检测器参数设置）：AutoRange；Target Calibration Wavelength（校准波长）：570 nm（Firefly Luciferase）。选择 shake before Read。
4. 检测板：为防止孔间干扰，推荐使用不透光白色酶标板或者黑色酶标板；如测量光度值较高，为避免互相干扰，也可隔孔上样。
5. 如样品较多，推荐使用排枪添加检测试剂。
6. 实验中请穿实验服并戴一次性手套。

实验步骤：

1. 裂解细胞
 - a) 贴壁细胞：推荐汇合度在 90% 以上。不用吸除细胞培养基，通常加入与培养基同体积的混合试剂即可。
 - b) 悬浮细胞：只要细胞生长良好，一般无密度要求。其他同贴壁细胞。

推荐使用量

细胞培养皿	384 孔板	96 孔板
培养基体积	25 μ L	100 μ L
添加试剂体积	25 μ L	100 μ L

2. 直接加入试剂后用枪头吹打 5 次，使细胞裂解更充分。等待 10 min，使细胞充分裂解。
3. 用枪头吹打时尽量不要有泡沫和气泡出现。
4. 上样
每孔吸取 100 μ L 混合液（检测试剂+细胞培养基）到白色检测板。（如样本量较大推荐用排枪吸）
5. 荧光检测
设置酶标仪参数（参考 实验准备 3）。将白色检测板放入酶标仪。震动几秒。检测即可。