



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

YO-PRO-1/RNase 细胞核染色液

产品编号	产品名称	包装
R28021-100T	细胞活力检测试剂盒(发光法)	100T

产品简介:

源叶生产的 II 发光法细胞活力检测试剂盒(II Luminescent Cell Viability Assay Kit), 简称 CTL II 发光法细胞活力检测试剂盒或 CTL II, 是一种通过化学发光法测定细胞内 ATP 含量从而用于超高灵敏度、超宽线性范围定量检测活细胞数目的试剂盒。

本产品是发光法细胞活力检测试剂盒(简称 CTL)的不同包装版本, 两者的检测效果完全一致。CTL 为即用型液体, 优点是无需配制即可以直接使用, 缺点是长期保存需要置于-80° C, 如果在-20° C 保存时间较长后检测效果会逐渐下降; 本产品, 即 CTL II, 为 CTL 的冻干粉版本, 使用前需要使用提供的缓冲液充分溶解底物冻干粉后才能使用, 优点是在-20° C 保存特别稳定。

本试剂盒的性能基本达到甚至在有些方面优于国外同类产品。本产品的用途与 Plus Luminescent Cell Viability Assay(简称 CTL Plus)及 Promega 公司的 CellTiter-Glo® Luminescent Cell Viability Assay(简称 CellTiter-Glo® 或 CTG)基本相同, 检测灵敏度和发光检测数据略优于 CTL Plus, 显著优于 CTG, 线性范围和 CTL Plus 和 CTG 相近, 但检测上限和发光检测数据随时间的稳定性稍稍低于 CTL Plus 和 CTG。本产品与 CTL Plus 和国外同类产品(Competitor P)的检测效果比较参见图 1。

本产品线性范围宽。96 孔板中, 在 12 个至 3 万个细胞范围内有良好的线性关系。不同细胞的检测数量上限会有显著不同, 对于一些 ATP 含量特别高的细胞, 在细胞数量达到 3 万个后可能会不呈现线性关系, 但化学发光读数还是会继续升高的。如果检测的细胞数量超过 3 万, 推荐使用检测上限更高的 Plus II 发光法细胞活力检测试剂盒或 Plus 发光法细胞活力检测试剂盒。

本产品发光强度高。对于相同的细胞样品, 通常在 3 万个细胞数量范围内, 本产品的发光效果比 CTL Plus 强约 20-100%, 比国外同类产品强 1-3 倍, 实测效果会因细胞种类的不同而有所不同。例如, 对于 NIH3T3 和 HeLa 细胞的检测, CTL



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

的发光强度比 CTL Plus 高约 40-100%，比国外同类产品强约 2-3 倍；而对于 Jurkat 细胞的检测，CTL 的发光强度则比 CTL Plus 强约 20-70%，比国外同类产品强约 1.5-3 倍(图 1D)。

本产品检测灵敏度高。使用本产品检测细胞数量仅为 12 个/孔时，发光强度可达空白孔的 2 倍左右。本产品与 CTL Plus 和国外同类产品(Competitor P)的检测效果比较参见图 1。

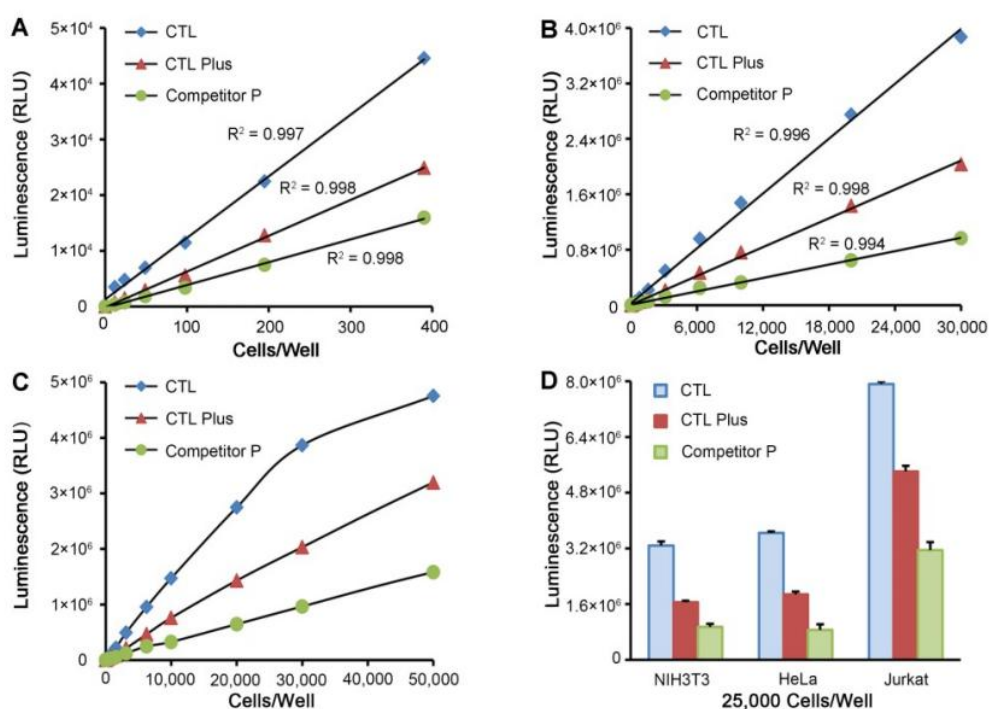


图 1. 本产品 CellTiter-Lumi II Luminescent Cell Viability Assay Kit (CTL II)和同类产品 CellTiter-Lumi™ Plus Luminescent Cell Viability Assay (CTL Plus)及国外同类产品(Competitor P)对不同细胞的检测效果。CTL II 与源叶的 CellTiter-Lumi 发光法细胞活力检测试剂盒 (CTL)的检测效果完全一致。图 A-C 为 CTL 即 CTL II、CTL Plus 和 Competitor P 对不同数量 HeLa 细胞在白色 96 孔板中的检测效果，图 D 为 CTL 即 CTL II、CTL Plus 和 Competitor P 对 2.5 万个/孔 NIH3T3、HeLa 和 Jurkat 细胞在白色 96 孔板中的检测效果。实际读数会因细胞种类、检测仪器等的不同而存在差异，图中数据仅供参考。

本产品操作简单，读数稳定，检测速度快，完成检测仅需约 10 分钟。本产品比常见的 MTT、alamarBlue、Calcein-AM、WST-1、CCK-8 等其它细胞活力测定方法更加简单快捷。只需用试剂盒提供的检测缓冲液把检测底物(冻干粉)充分溶解后



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

配制成 CellTiter-Lumi II 发光法检测试剂后, 与培养细胞等体积混合, 反应 10 分钟后即可进行化学发光检测。无需洗涤细胞, 也无需更换或去除培养液。并且化学发光比较稳定, 在反应开始后的 10 分钟内下降不超过 10%, 30 分钟内的下降不超过 30%。

本产品稳定性好。本产品在-20°C 可以长期保存, 配制成 CellTiter-Lumi II 发光法检测试剂后的稳定性也非常好, 反复冻融 5 次对检测效果基本无影响, 反复冻融 10 次检测效果下降不超过 10%。CellTiter-Lumi II 发光法检测试剂在 4°C 保存 3 天对检测效果无显著影响, 保存 7 天检测效果下降不超过 10%。在室温保存 1 天仍可保留 80%以上的检测效果。在 37°C 保存 1 天可保持 60%以上的检测效果。

本产品使用灵活便捷。本产品不仅适合少量样品检测, 也非常适合大量样品的高通量筛选(high-throughput screening)检测。

ATP, 作为最重要的能量分子, 在细胞的各种生理、病理过程中起着重要作用。ATP 是细胞新陈代谢的一个重要指标, 也是具有代谢活性细胞的重要标志性分子, 并和活细胞数目成良好的线性关系。因此, ATP 含量能很好地反应活细胞的数目, 即本试剂盒可以通过测定 ATP 含量来进行细胞计数或检测细胞活力。

本试剂盒通过 ATP 检测细胞活力的原理参见图 2。借助 ATP 依赖的萤光素酶催化的萤光素发光反应, ATP 可以通过测定化学发光来进行定量。由于 ATP 含量能很好地反映活细胞的数目, 而 ATP 含量和发光强度成正比, 这样就可以简单地通过化学发光强度来计算出细胞活力或细胞数目。

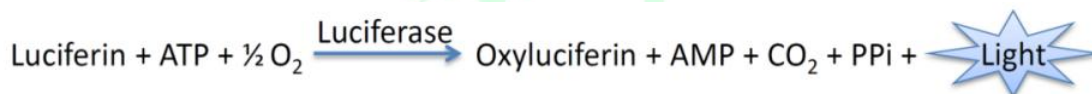


图 2. 源叶 CellTiter-Lumi II 发光法细胞活力检测试剂盒(CTL II)检测 ATP 的原理图。

对于 96 孔板, 推荐使用 100 μ l 细胞培养液和 100 μ l 的检测试剂, 总体积为 200 μ l, 此时本试剂盒每 10ml 可以进行 100 次检测。对于 384 孔板, 推荐使用 25 μ l 细胞培养液和 25 μ l 的检测试剂, 总体积为 50 μ l, 此时本试剂盒每 10ml 可以进行 400 次检测。也可以用其它体积的试剂进行检测, 但细胞培养液和检测试剂体积的比例须为 1:1。



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

产品组成:

产品编号	产品名称	包装
R28021-100T	CellTiter-Lumi II 发光法检测缓冲液	10ml
	CellTiter-Lumi II 发光法检测底物	1 瓶
—	说明书	1 份

保存条件:

-20°C 避光保存, 至少两年有效。

注意事项:

对于订购后可能放置较长时间后再使用的, 或者对于检测结果的精度要求特别高的, 推荐订购本产品, 即 CellTiter-Lumi II; 对于订购后短期内使用完毕的, 推荐订购使用更加便捷的 CellTiter-Lumi 发光法细胞活力检测试剂盒。

由于荧光素酶的活性对温度比较敏感, 所以反应前细胞和检测试剂均需达到室温后再进行测定。可将检测缓冲液在不超过 25°C 的室温或 20-25°C 的水浴中融解并混匀后再与检测底物混合成检测试剂使用。

本试剂盒的检测缓冲液和检测底物混合后配制成的 CellTiter-Lumi II 发光法检测试剂中含有荧光素酶, 反复冻融会导致其逐渐失活。尽管经测试 CellTiter-Lumi II 发光法检测试剂反复冻融 5 次对于其检测效果无显著影响, 为保证检测试剂的稳定性、取得良好的使用效果, 建议现用现配。没有用完的检测试剂可适当分装保存, 但需注意分装的容器不能有 ATP 污染。反复冻融过程中, 可能会导致检测试剂中出现少量沉淀, 此时宜平衡至室温, 并尽量溶解。如仍有残留的不溶物, 可以离心去除后使用, 经测试不会影响后续的检测效果。

待测药物的溶剂含量较高时可能会干扰荧光素酶反应, 从而影响化学发光信号。可以通过设置含有溶剂的细胞培养液对照孔排除溶剂的干扰。经测试, 最终反应体系中 DMSO 含量在 2% 以内不会对反应产生影响。

检测时需使用白色或黑色的 96 孔板或 384 孔板。如果使用普通透明的 96 孔板或 384 孔板, 相邻孔之间会产生相互干扰。

使用说明中提供了检测 ATP 标准品的方法, 实际检测细胞活力时通常并不需要检测 ATP 标准品。



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。

为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

1. 细胞的准备：

使用适合进行化学发光检测的 96 孔板，每孔接种 100 μ l 细胞(如使用 384 孔板，每孔接种 25 μ l 细胞，具体用量视不同类型的 384 孔板而定)，并确保检测时每孔的细胞数量在 3 万个以内(如使用 384 孔板宜控制在 6 千个以内)，同时设置不含细胞的培养液孔作为阴性对照，按照细胞培养的常规方法培养细胞。如有需要，可加入药物处理细胞。此外，如有必要，也可以设置细胞的浓度梯度，以便后续确定试剂盒的使用效果。

2. ATP 标准曲线的设置(选做)：

把自备的 ATP 标准溶液用 PBS 或细胞培养液稀释成适当的浓度梯度。初次检测可以设置 0、1、3、10、30、100、300、1000、3000nM 这几个浓度，96 孔板每孔加入 100 μ l 的标准品。如有必要，在后续的实验中可以根据细胞中的 ATP 含量对标准品的浓度范围进行适当调整。如果用细胞培养液来稀释 ATP 标准品，稀释后需立即进行后续的发光检测，否则培养液中的 ATPase 等可以消耗 ATP 的酶会导致 ATP 含量下降。

3. 检测试剂的准备：

a. 融解冻存的 CellTiter-Lumi II 发光法检测缓冲液，将检测缓冲液全部转移至检测底物瓶中，旋紧瓶盖后适当颠倒混匀，当检测底物全部溶解并混匀后即成为 CellTiter-Lumi™ II 发光法检测试剂。如有必要可适当分装配制好的检测试剂。经测试反复冻融 5 次对其检测效果无显著影响。

注：冻干粉状的 CellTiter-Lum II 发光法检测底物可能会有少量粘附在瓶盖和瓶口，旋开瓶盖前可以拿起瓶子用瓶底轻轻敲击桌面，使粉末尽量掉落至瓶底，然后再轻轻旋开瓶盖，并注意不要损失冻干粉。

b. 按照 96 孔板每孔 100 μ l (384 孔板每孔 25 μ l) 的量，取适量 CellTiter-Lumi II 发光法检测试剂，平衡至室温。

4. 细胞活力检测:

- 取出细胞培养板在室温平衡 10 分钟(通常不宜超过 30 分钟)。
- 96 孔板每孔加入 100 μ l CellTiter-Lumi II 发光法检测试剂(384 孔板每孔 25 μ l)。
- 室温振荡 2 分钟, 以促进细胞的裂解。
- 室温(约 25°C)孵育 10 分钟, 使发光信号趋于稳定。
- 使用具有检测化学发光功能的多功能酶标仪进行化学发光检测。请根据仪器要求设置相应的参数, 每个孔的检测时间一般为 0.25-1 秒或更长时间, 具体需根据仪器的检测灵敏度进行适当的调整。
- 根据化学发光读数直接计算细胞的相对活力, 或根据 ATP 标准曲线计算出 ATP 的量从而计算出细胞的相对活力。对于培养细胞和 ATP 标准品的检测效果可以参考图 1 和图 3, 细胞在 0-30,000 个细胞/孔的细胞密度范围内有良好的线性关系, ATP 标准品 0-3,000nM 浓度范围有良好的线性关系。注: 检测效果因细胞的种类不同而有所不同, 对于一些 ATP 含量特别高的细胞, 在细胞数量达到 30,000 个后可能会不呈现线性相关, 但化学发光读数还是会继续升高的。

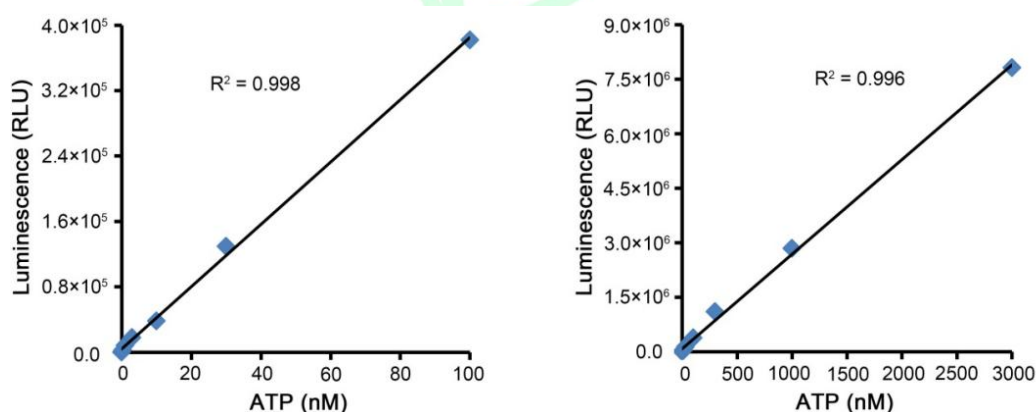


图 3. CellTiter-Lumi II 发光法细胞活力检测试剂盒(CTL II)对 ATP 标准曲线的检测效果。实测数据会因检测仪器等的不同而存在差异, 图中数据仅供参考。