Genomeditech (Shanghai) Co., Ltd.
Order: +86 021-50432825/50432826
Email: service@genomeditech.com

**V 1.0.1**

# GMTiter™ Luminescent Cell Viability Assay

# 细胞活力检测试剂盒

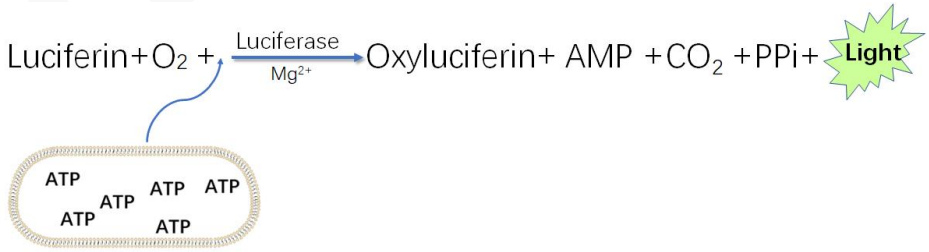
## 产品信息：

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

## 检测原理：

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。萤火虫荧光素酶（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，其能够把荧光素（luciferin）催化成氧化荧光素（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：




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。

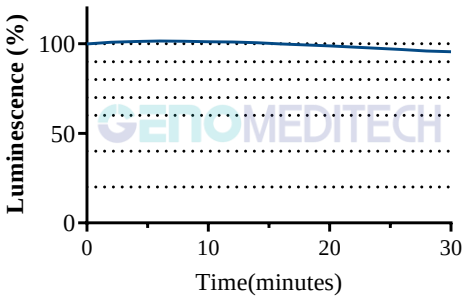



图 2：本产品对人 B 淋巴瘤细胞 30 min 稳定性检测效果（96 孔板）。细胞数量 10000 个/孔（悬液），3 复孔，取均值。

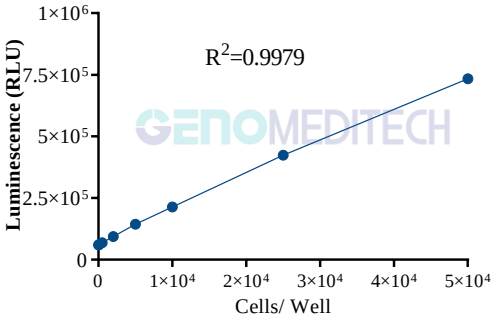



图 3：本产品对人 B 淋巴瘤细胞的检测效果显示线性范围较宽，在 2 万个细胞范围内呈现良好的线性关系。首孔细胞数量 39 个/孔（悬液），依次为 78、 156、 312、 625、1250、 2500、5000、10000、20000 个/孔。3 复孔，取均值。

注：实际读数会因各种原因存在差异，图中数据仅供参考。

**运输和复温：**

干冰运输。使用前完全恢复室温即可。

**保存条件：**

-80ºC 避光保存，未开封试剂有效期一年；如果-20ºC 避光保存，推荐 2 个星期以内使用。拆封后推荐分装（避光）。不建议长时间放在室温。

**实验准备：**

1. 主要实验耗材与设备：200 μL 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℃）时再使用；检测试剂复温环境不能超过 25℃。
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）：470 nm。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 μL | 100 μL |
| 添加试剂体积 | 25 μL | 100 μL |

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 μL 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。

Genomeditech