

金标准
检测方案

Perfect Solution for ATP Detection and Cell Viability

ATP 及细胞活力 快速检测方案



欢迎关注 Promega 官方微信

更灵敏·更快速·更强大

金牌产品

CellTiter-Glo[®] Luminescent Cell Viability Assay

CellTiter-Glo[®] Luminescent Cell Viability Assay 是基于ATP检测的快速细胞活力检测法。在国内外被广泛应用和公认的高灵敏度发光检测法，在知名国际药厂中是细胞活力检测及药物毒性检测的金标准。也是高影响因子指数文献的宠儿。

产品信息：

检测靶标	检测法	产品	目录号	规格 (96 孔板)
ATP	生物发光	CellTiter-Glo [®] Luminescent Cell Viability Assay	G7570	10ml (100 assays)
			G7571	10 × 10ml (1000 assays)
			G7572	100ml (1000 assays)
			G7573	10 × 100ml (10000 assays)

反应原理：

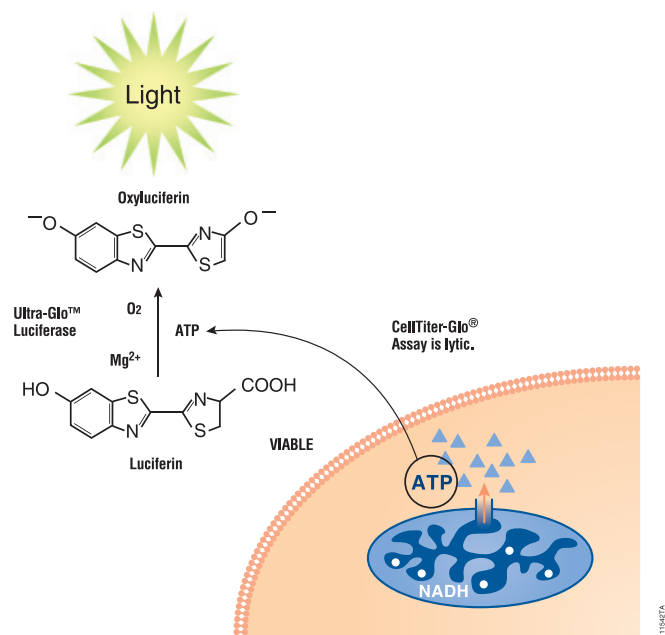
试剂直接裂解细胞后，细胞中的ATP与试剂中的Ultra-Glo[™] 萤光素酶反应产生光信号，检测ATP含量。

特点：

- 快速简单：一步法**10min**快速检测，无需去除培养基。
- 高灵敏度：低至15个细胞即可检测。
- 信号稳定：>5h，可高通量操作。
- 误差更小：数据连续性好，细胞活力检测金标准。
- 大量高影响因子文献可参考：见应用文献部分。

应用：

- 细胞活力
- 测定药物毒性或抑制率IC₅₀
- 细胞ATP水平变化



不同细胞活力检测方法性能比对：

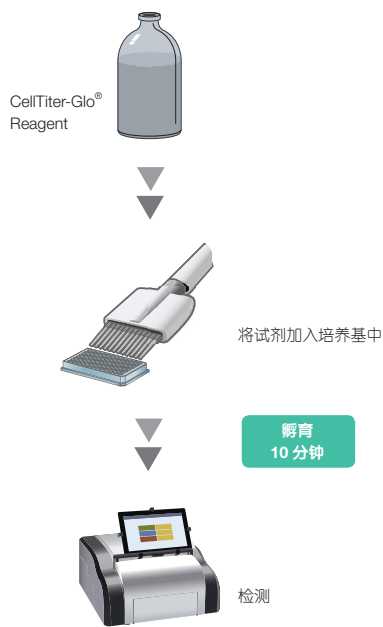
性能指标	生物发光法细胞活力检测 CellTiter-Glo [®] Luminescent Cell Viability Assay	荧光法细胞活力检测 如 Alamar Blue	比色法细胞活力检测 如 MTT
灵敏度	15 个活细胞	400 个活细胞	1000 个活细胞
操作时间	10 分钟	1-4 小时	1-4 小时
细胞处理	无需处理	无需处理	<ul style="list-style-type: none">需配制染料反应后需去除培养基上清需以有机溶剂溶解细胞
受待测化合物自发荧光干扰	不受干扰	有干扰	有干扰

金牌产品

CellTiter-Glo[®] Luminescent Cell Viability Assay

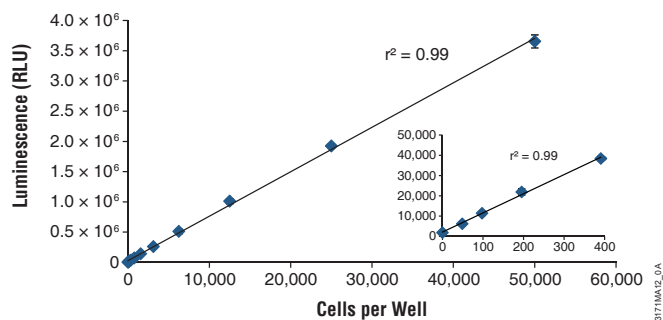
操作步骤:

CellTiter-Glo[®] 操作步骤

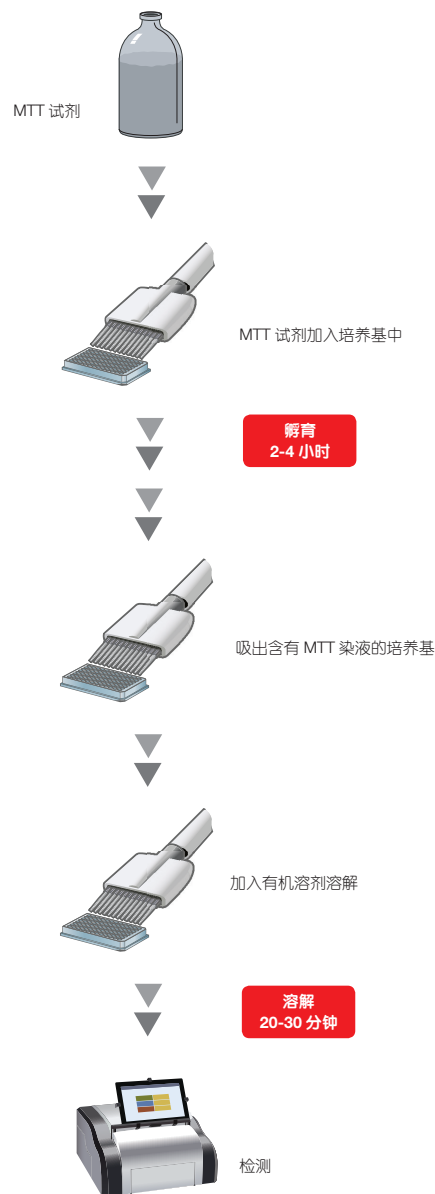


1 Step

操作简单：一步法
灵敏度高：10-15 个细胞



传统 MTT 操作步骤



>3 Step

金牌产品

CellTiter-Glo[®] Luminescent Cell Viability Assay

CellTiter-Glo[®]性能测试实验数据

CELLTITER-GLO[®] ASSAY: APPLICATION FOR ASSESSING DIRECT CYTOTOXICITY AND FOR DETERMINING CELL PROLIFERATION

JÓZEFA WESIERSKA-GADEK, PH.D., AND JACEK WOJCIECHOWSKI, PH.D., CELL CYCLE REGULATION UNIT, INSTITUTE OF CANCER RESEARCH,
UNIVERSITY OF VIENNA, VIENNA, AUSTRIA

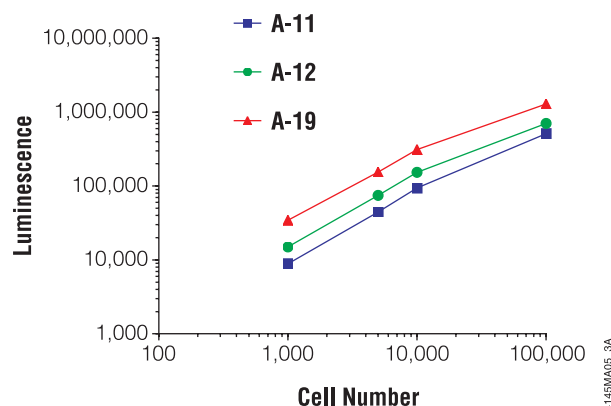
方法:

- **细胞系:** 使用人宫颈癌HeLa S3 细胞, 小鼠成纤维细胞(NIH3T3), 从野生型小鼠A-19和小鼠胚胎成纤维细胞和多聚(腺苷二磷酸-核糖)聚合酶1 敲除的小鼠(PARP-1-deficient, A-12 and A-11)(1)的细胞。
- **细胞增殖实验:** 使用CellTiter-Glo[®] Assay和WST-1比色法试剂在96孔板进行检测。
- **细胞数量检测:** 细胞以PBS悬浮, 来测定细胞量。使用Cell Analyser System CASY1 TTC进行检测。

结果:

CellTiter-Glo[®] Assay的检测结果显示在很宽的细胞数范围内都呈现线性。先以CellTiter-Glo[®] Assay检测细胞数, 右上图显示光信号与细胞数呈正比。即使是很少的细胞数也能产生清晰的可重复的光信号。

右上图: 对于不同的细胞系, 在细胞数与光信号强度均呈正比。从正常小鼠(A-19)和 PARP-1 缺陷小鼠获得的成纤维细胞按照指定数量 /100 μ l 铺于 96 孔板, 加入 CellTiter-Glo[®] Reagent (100 μ l) 然后振荡孵育, 根据说明书的指导的条件检测光信号。每个数据源于 8 个复孔。(复孔间误差小于 6%)

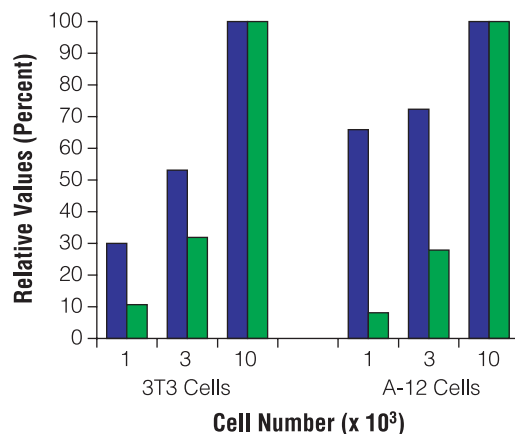


比较传统比色法与CellTiter-Glo[®] Assay:

传统比色法以传统四唑盐WST-1被活细胞还原成甲瓊的方法, 使用 1×10^4 个细胞作为标准值(100%), 比较同样细胞数下比色法和发光法的发信号强度。如右下图所示, 比色法的结果与CellTiter-Glo[®] Assay 的结果有所不同。CellTiter-Glo[®] Assay显示出发光信号与细胞数之间的线性关系。但是传统比色法则在细胞数低时缺乏与信号值的线性关系, 灵敏度受限。比色法的问题主要是源于培养基引起的高背景所致。

右下图: 比较传统比色法与 CellTiter-Glo[®] Assay。

传统比色法以传统四唑盐 WST-1 被活细胞还原成甲瓊的方法。小鼠成纤维细胞 NIH3T3 和 PARP-1 缺陷 A-12 细胞按照一定数量种 96 孔板中, 100 μ l/孔。CellTiter-Glo[®] Reagent (100 μ l) 或 10 μ l WST-1 试剂加入细胞中, 混合孵育, 检测发光数值和比色数值。每个数据是 4 个复孔的数据。



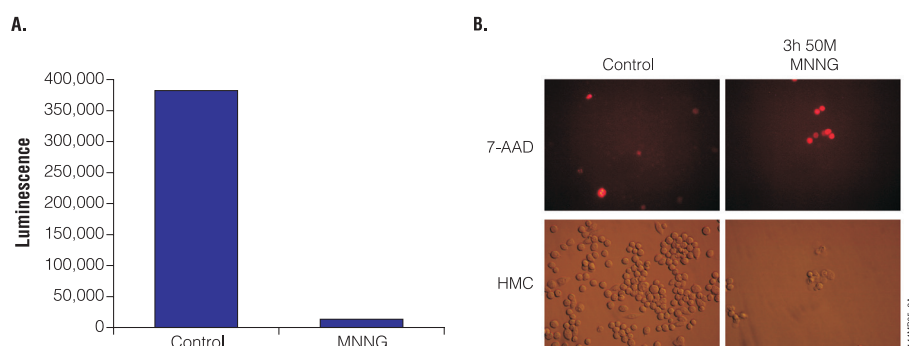
金牌产品

CellTiter-Glo® Luminescent Cell Viability Assay

应用 CellTiter-Glo® Assay检测直接细胞毒性。

检测细胞毒性，测定烷化剂是否能激活PARP-1,导致细胞内NAD池的消耗能够引起光信号的降低。为了这个目的，以高浓度的烷化剂MNNG处理人宫颈癌细胞系HeLa细胞3小时，与未处理的对照组相比图A。CellTiter-Glo® Assay 检测到在处理时细胞活力明显下降至3%。特别是在高浓度时能够造成大量DNA双链断裂，激活核内的PARP-1酶，导致细胞内NAD池消耗。为了确定光信号的下降反应的是细胞活力的降低而不是断裂DNA激活PARP-1引起的，我们做了平行实验，以染料排斥方法通过显微镜检测质膜的完整性。如图B所示，以50μM MNNG处理3小时的HeLa细胞，细胞活力明显变化。大量细胞丧失了贴壁黏附性，而悬浮起来。剩余的贴壁的细胞显示出密度的下降，大部分贴壁的细胞累积了7-AAD，证明了质膜完整性的丧失。并且我们确定了悬浮细胞的细胞活力。悬浮细胞的碎片丧失光信号，与染料的累积相关。结果显示MNNG的处理破坏了质膜的完整性，损害了细胞的活力。根据以上结果可以确定CellTiter-Glo® Assay 适合于检测直接细胞毒性。

右图·以 CellTiter-Glo® Assay 检测直接细胞毒性。Panel A. 以 CellTiter-Glo® Assay 检测贴壁 HeLa S3 细胞的活力。HeLa 细胞以 5×10^3 的数量铺于 96 孔板，培养 24 小时，然后以 50μM MNNG 处理 3 小时。处理后，对照组和处理组细胞以 PBS 洗涤，然后加入 CellTiter-Glo® Reagent。然后混匀孵育，检测发光信号。Panel B. 对照组细胞和处理组细胞以 PBS 洗涤，然后以 7-AAD/7-AAD (7-amino-actinomycin D) 染色。细胞以显微镜成像。



应用文献

ATP Released by Electrical Stimuli Elicits Calcium Transients and Gene Expression in Skeletal Muscle*

Sonja Buvinic†, Gonzalo Almaraz†, Mario Bustamante†, Mariana Casas†, Javiera Lo´pez §, Manuel Riquelme¶, Juan Carlos Sa´ez¶, Juan Pablo Huidobro-Toro §, and Enrique Jaimovich†1

JBC 284, NO. 50, pp. 34490-34505, 2009 (期刊影响因子指数:)

应用：ATP检测

Identification of selective inhibitors of cancer stem cells by high-throughput screening.

Gupta, P.B., Onder, T.T., Jiang, G., Tao, K., Kuperwasser, C., Weinberg, R.A. and Lander, E.S.

Cell 138, 645-59.2009 (期刊影响因子指数:32.242)

应用：药物筛选

Discovery of a cytokine and its receptor by functional screening of the extracellular proteome.

Lin, H., Lee, E., Hestir, K., Leo, C., Huang, M., Bosch, E., Halenbeck, R., Wu, G., Zhou, A., Behrens, D., Hollenbogh, D., Linnemann, T., Qin, M., Wong, J., Chu, K., Doberstein, S.K. and Williams, L.T.

Science 320, 807-11.2008 (期刊影响因子指数:33.611)

应用：细胞活力

Genome-wide RNAi analysis of growth and viability in Drosophila cells.

Boutros, M., Kiger, A., Armknecht, S., Kerr, K., Hild, M., Koch, B., Haas, S., Heidelberg Fly Array Consortium, Paro, R., and Perrimon, N.

Science 303, 832-835.2004 (期刊影响因子指数:33.611)

应用：细胞活力

The threshold pattern of calcineurin-dependent gene expression is altered by loss of the endogenous inhibitor calcipressin.

Ryeom, S., Greenwald, R.J., Sharpe, A.H. and McKeon, F.

Nature. Immunol. 4(9), 874-881.2003 (期刊影响因子指数:20.004)

应用：细胞活力

新产品

CellTiter-Glo® 2.0 Assay

CellTiter-Glo® 2.0 Assay 是基于CellTiter-Glo® Assay 的ATP检测原理，但是单一即用形式的试剂，无需配制，存储方便，易于操作。4℃下存储 1 个月仍保留超过 90%的活性，室温下存储一周能保留 85%的活性。CellTiter-Glo® 2.0检测试剂盒为多孔板而设计，是进行自动化高通量筛选(HTS)，细胞增殖和毒性分析的理想选择。发光信号半衰期一般大于3小时，因细胞类型和培养基而异。由于信号半衰期长，不需要使用试剂自动进样器，就可灵活地进行连续或批量的多孔板处理。

反应原理：

试剂直接裂解细胞后，细胞中的ATP与试剂中的Ultra-Glo™荧光素酶反应产生光信号，检测ATP含量。

特点：

- **即用型试剂：**单一即用型试剂，储存方便，4℃或 22℃下能稳定存储。试剂无需解冻和准备，节省资源和时间。
- **存储稳定性增强：**能够稳定储存于4℃或室温，使得同样的试剂盒可以在数天或数周内多次使用，同时保持活性。
- **性能强大：**光信号稳定，半衰期超过3个小时，因细胞类型和培养基而异，样品可进行批量处理，适用于筛选。
- **灵活：**可用于不同规格的多孔板实验(96孔，384孔和1536孔板)。适应低通量到高通量的应用需求。可通过化学发光或CCD成像设备或其他具有读取多孔板发光能力的成像设备记录数据。
- **操作简单：**“加样 - 混合 - 读取”，孵育时间仅需 10 分钟。

CellTiter-Glo®与CellTiter-Glo® 2.0在不同细胞和不同培养基条件下的表现：

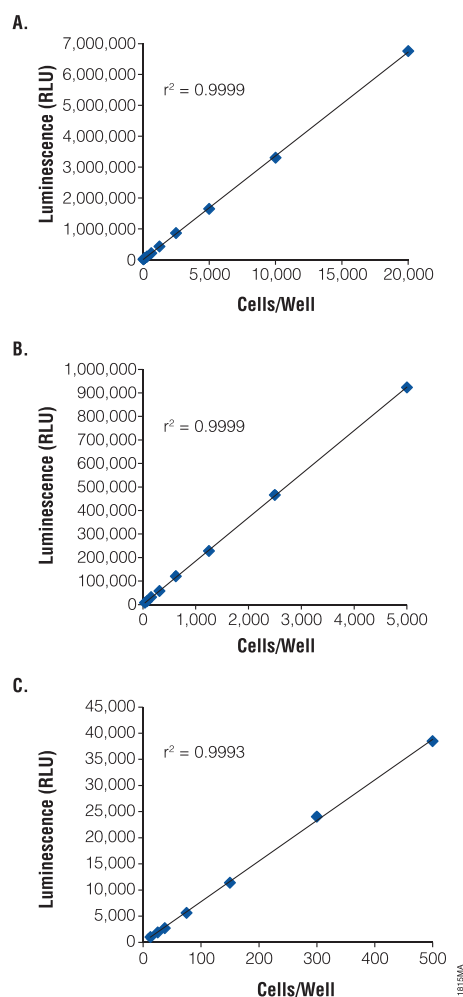
培养基类型	细胞类型	发光信号 (RLU × 10 ⁶)		信号半衰期 (小时)	
		CellTiter-Glo® 2.0 Reagent	CellTiter-Glo® Reagent	CellTiter-Glo® 2.0 Reagent	CellTiter-Glo® Reagent
Mem α	MCF7	4.06	6.40	7.30	4.81
McCoy's 5A	U2OS	5.98	9.27	7.14	5.07
F12	CHO	5.86	8.76	6.97	4.99
RPMI	HCT116	6.75	10.86	7.53	4.95
	Jurkat	12.80	21.10	7.41	5.33
	U397	13.51	20.86	7.07	5.33
DMEM	HEK293	6.21	10.07	7.27	4.83
	HeLa	5.80	9.01	7.02	4.88
	HepG2	6.52	10.34	7.27	4.83

注：1 × 10⁴ 细胞铺于多孔板中培养 24 小时，再 1:1 加入试剂读取光信号。悬浮细胞以 10⁵ 铺于多孔板。

检测靶标	检测法	产品	目录号	规格 (96 孔板)
ATP	生物发光	CellTiter-Glo® 2.0 Assay	G9241	10ml (100 assays)
			G9242	100ml (1000 assays)
			G9243	500ml (5000 assays)

	22℃	4℃
CellTiter-Glo®	12 小时	3.5 天
CellTiter-Glo® 2.0	1 周	4 个月

下图，细胞数与光信号的相关性。



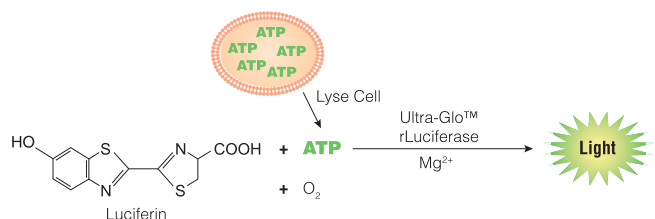
新产品

CellTiter-Glo® 3D Assay

CellTiter-Glo® 3D细胞活力检测试剂的特殊配方使其拥有更强劲的裂解能力，专门用于检测3D细胞培养产生的微组织(microtissue)的细胞活力，适用于高通量筛选(HTS)。

反应原理：

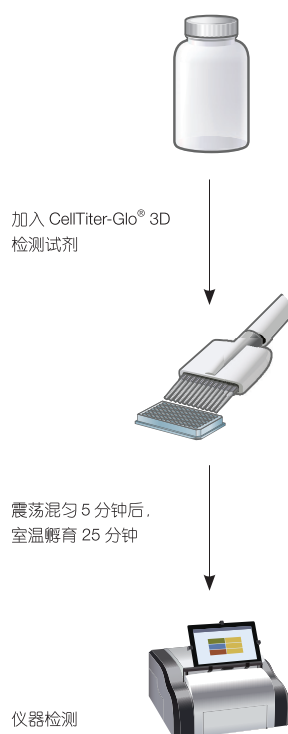
通过对ATP的定量来测定3D培养细胞的细胞活力。ATP是活细胞新陈代谢的指标。



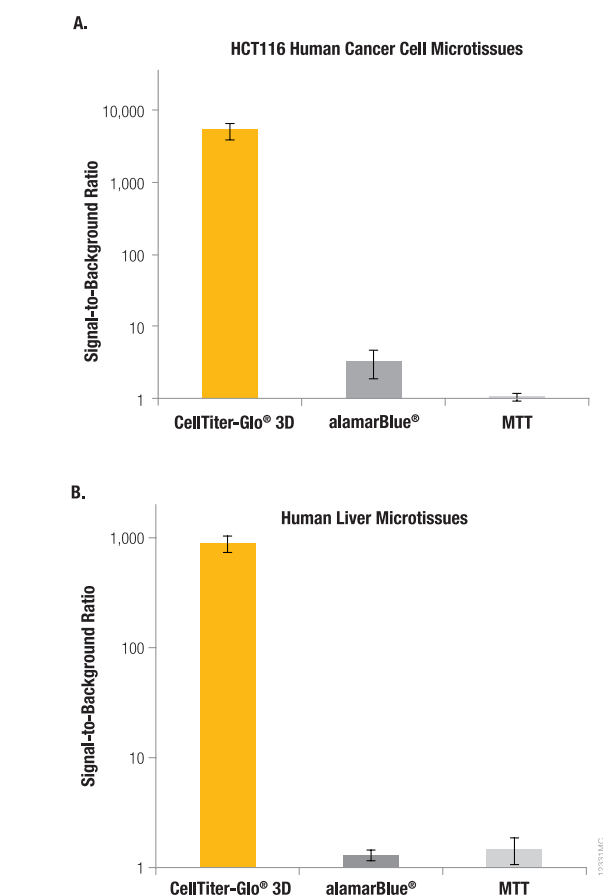
产品特点：

- 性能强劲：可渗入微组织。
- 即用型试剂：仅需简单的“加样-混合-检测”操作。
- 信号稳定，半衰期超过3小时
- 操作快速、简单，仅需30分钟
- 适用于高通量筛选

操作步骤：



实验举例：



右图：CellTiter-Glo® 3D 细胞活力检测试剂盒和 alamarBlue 法、MTT 法细胞活力检测方法的检测结果。

A. 将 HCT116 细胞 (RPMI 培养基 +10% FBS) 接种在 InSphero GravityPLUS™ 96-孔悬滴培养板，培养 4 天后形成的直径约 340μm 的微组织。**B.** Insight™ 人肝脏微组织 (~250μm) 由 InSphero 提供。所有微组织均使用 CellTiter-Glo® 3D, alamarBlue® 和 MTT 方法检测 (按制造商操作说明操作)。CellTiter-Glo® 3D, alamarBlue® 和 MTT 方法所需总的操作时间分别为 30 分钟、3 小时，和 8 小时。

- **使用简单**

选择预置的 Promega 程序或编辑您自己需要的程序。数据可输出至网络，云，LIMS 或其他服务器。容易实现化学发光，荧光，UV- 可见吸收光，BRET 和 FRET 检测。

- **可实现自动化**

可与您的自动化工作流程整合实现高通量检测，或者整合进您的 LIMS 数据管理系统。

- **超高灵敏度**

动态范围宽，灵敏度高，孔间交叉干扰小，使得您的数据更加可信。

- **服务**

为您提供全面服务，包括 Installation Qualification(IQ) 和 Operational Qualification (OQ)。

- **手动干扰最小化**

自动转换滤片，轻松实现多重检测。

- **节省人力**

预置的程序可节省优化程序的时间。

- **检测结果输出**

提供为控制电子签名的 21CFR Part 11 compliant system 要求的技术要素。

- **直观的软件界面**

触摸屏可实现编辑程序，整合自动化平台，输出数据。

GloMax

DISCOVER

高效，易用的多功能检测仪，
用于化学发光，荧光，吸收光，
BRET 和 FRET。



更多细胞活力检测解决方案请咨询 Promega 公司或 Promega 各地经销商
请关注微信查询 Promega 经销商联系方式

普洛麦格（北京）生物技术有限公司

地址：北京市东城区北三环东路 36 号环球贸易中心 B 座 907-909

电话：010-58256268 传真：010-58256160

网址：www.promega.com

技术支持电话：8008108133

技术支持邮箱：chinatechserv@promega.com

印刷时间：2015.9



欢迎关注 Promega 官方微信