

产品目录号：
G7570
G7571
G7572
G7573

CellTiter-Glo[®] 萤光细胞活性检测

简明操作步骤



注意：这是节选操作步骤，详细英文说明书见 <http://www.promega.com/tbs/> 本简明操作步骤电子版见 www.promega.com.cn

I. 产品组分和储存条件

产品	包装	目录号
Celltiter-Glo [®] Luminescent Cell Viability Assay	10ml	G7570

底物足够 96 孔板检测 100 次反应 (100ul/反应)，或 384 孔板检测 400 次反应 (25ul/反应)。包括：

- 1x10ml CellTiter-Glo[®] Buffer
- 1 瓶 CellTiter-Glo[®] 底物 (冻干粉)

产品	包装	目录号
Celltiter-Glo [®] Luminescent Cell Viability Assay	10x10ml	G7571

每瓶底物足够 96 孔板检测 100 次反应 (100ul/反应)，或 384 孔板检测 400 次反应 (25ul/反应)，整个试剂盒可以做 1000 次 (96 孔板) 或 4000 次 (384 孔板) 检测。包括：

- 10x10ml CellTiter-Glo[®] Buffer
- 10 瓶 CellTiter-Glo[®] 底物 (冻干粉)

产品	包装	目录号
Celltiter-Glo [®] Luminescent Cell Viability Assay	100ml	G7572

底物足够 96 孔板检测 1,000 次反应 (100ul/反应)，或 384 孔板检测 4,000 次反应 (25ul/反应)。包括：

- 1x100ml CellTiter-Glo[®] Buffer
- 1 瓶 CellTiter-Glo[®] 底物 (冻干粉)

产品	包装	目录号
Celltiter-Glo [®] Luminescent Cell Viability Assay	10x100ml	G7573

每瓶底物足够 96 孔板检测 1,000 次反应 (100ul/反应)，或 384 孔板检测 4,000 次反应 (25ul/反应)，整个试剂盒可以做 10,000 次 (96 孔板) 或 40,000 次 (384 孔板) 检测。包括：

- 10x100ml CellTiter-Glo[®] Buffer
- 10 瓶 CellTiter-Glo[®] 底物 (冻干粉)

CellTiter-Glo[®] 荧光细胞活性检测简明操作步骤



储存条件: 长期储存, 冻干粉的CellTiter-Glo[®] 底物和 CellTiter-Glo[®] 缓冲液应储存在-20℃。

若要经常使用, CellTiter-Glo[®] 缓冲液可以存在4℃ 或存于室温48 小时活性不损失。

有效期见产品包装。

配制好的CellTiter-Glo[®] 试剂(缓冲液加底物)可以在4℃ 储存48小时, 活性损失约5%; 或4℃ 储存4天活性损失约20%。

III. CellTiter-Glo[®] 检测的操作步骤

由使用者准备的材料

- 不透明壁多孔板, 用于细胞培养物
- 多道移液器或自动移液器
- 摇板机或其它能混合多孔板内容物的仪器
- 发光检测仪或能够读微孔板的CCD 照相机。
- 非必须: 制作标准曲线的ATP (Section III.C)

III. A. 试剂制备

1. 使用前, 融化CellTiter-Glo[®] 缓冲液, 并平衡至室温。为方便起见, 在使用前48小时融化CellTiter-Glo[®] 缓冲液并在室温保存。
2. 在使用前将冻干粉CellTiter-Glo[®] 底物平衡到室温。
3. 将适当体积(A包装取10ml, B包装取100ml)的 CellTiter-Glo[®] 缓冲液转移到装有CellTiter-Glo[®] 底物的棕色瓶中, 配制成酶/底物混合物, 这就形成了 CellTiter-Glo[®] 试剂。

注意: 将整瓶CellTiter-Glo[®] 缓冲液倒进 CellTiter-Glo[®] 底物瓶中。

4. 轻轻震荡混合, 摇晃或上下颠倒小瓶使溶液均一。 CellTiter-Glo[®] 底物应很容易在1分钟内完全溶解。

III. B. 细胞活性检测的操作步骤

1. 在一块壁不透明的多孔板上准备好带培养基的哺乳动物细胞, 96 孔板100μl/孔, 或384 孔板25μl/孔。
! 多孔板应与将使用的荧光发光计匹配。
2. 准备只含培养基不含细胞的对照孔, 以得到背景发光值。
3. 在实验孔中加入待测化合物, 按合适的条件进行孵育。
4. 将平板及其内容物平衡到室温, 大约需要30分钟。
5. 向每孔中加入与细胞培养基体积相等的CellTiter-Glo[®] 试剂(如, 向96 孔板内含100μl/孔的培养基中加100μl 试剂, 向384 孔板内加25μl 试剂)。
6. 在一个定轨振荡器上混合内容物2分钟, 诱导细胞裂解。
7. 将平板室温孵育10分钟, 使荧光信号值稳定。

注意: 温度梯度, 细胞分布不均匀和孔的边际效应可能导致不稳定的荧光信号值。

8. 记录发光信号。(仪器设置取决于仪器制造商。每孔整合读数时间设为0.25-1秒可作为设置参考。)

III. C. ATP 标准曲线操作步骤(非必须)

规范的操作是在样品检测的同一块平板上进行ATP标准曲线实验。

1. 在培养基中配制1μM ATP (100μl 的1μM ATP 含10⁻¹⁰ 摩尔 ATP)。
2. 在培养基中对ATP 进行10 倍系列稀释(1μM 到10nM; 100μl 体积将含有10⁻¹⁰到10⁻¹² 摩尔的ATP)。
3. 在多孔板的100μl 培养基内制备不同浓度的标准ATP 溶液(384孔板准备25ul)。

注意: 由于血清中存在的ATP酶降解ATP水平, ATP标准品配好后应立即加入试剂。

4. 在每孔中加入与ATP 标准液等体积的CellTiter-Glo[®] 试剂(1:1 体积比)。
5. 在振荡器上混合内容物2分钟。
6. 室温孵育10分钟, 稳定荧光信号值。
7. 记录发光值。