Instructions

CellTiter-Turbo 2.0 Luminescent Cell Viability Assay

适用于检测细胞活力或定量检测活细胞数目

货号：RA-GL11-A

产品仅用于科学研究，不得用于临床诊断和治疗。
RA-STP-QC-06034 01

damas life × Rhinogen®

目　　录

目　录 **1**

产品信息 **2**

试剂包装 2

保藏条件 2

产品综述 **3**

背景 3

概述 3

应用 3

特性 3

操作方法 **4**

操作简介 4

试剂准备 4

检测步骤 4

操作说明 5

相关产品 **6**

联系我们 **7**

产品信息

试剂包装

Cell Titer Turbo 2.0 Luminescent Cell Viability Assay 包装规格如下：

目录号	规格
RA-GL11-A	2×50mL

保藏条件

- 低于-10℃避光保存。为保证最佳使用性能，长期存储时，建议置于-70℃。
- 本品反复冻融6个循环仍可保持稳定。
- 分装可能导致ATP污染风险，避免分装。

产品综述

背景

三磷酸腺苷（Adenosine Tri-Phosphate, ATP）是自然界中各种生命活动中共用的能量载体，是能量储存和转移的最小单位。ATP 参与生物体内多种酶促反应，维持正常的生命活动，是活细胞新陈代谢的一个指标。ATP 是细胞内最重要的能量分子，可以用来衡量细胞新陈代谢水平，并与活细胞数目具有良好的线性关系，因此，可通过 ATP 含量反应活细胞的数目。通过监测 ATP 含量改变，可以评价多种药物、生物制剂或生物活性物质引起的细胞杀伤、细胞抑制和细胞增殖作用。ATP 含量的增高也常作为微生物繁殖引起食品、药品污染的一个重要指标。

概述

Cell Titer Turbo 2.0 Luminescent Cell Viability Assay 借助 ATP 依赖的荧光素酶催化的荧光素发光反应，通过化学发光信号测定细胞内 ATP 含量，从而检测细胞活力或定量检测活细胞数目，检测线性范围宽、灵敏度高、稳定性好。96 孔板中，在 100 个至 100,000 个细胞范围内有良好的线性关系，但不同细胞的检测数量上限会有不同。此外，操作简单，试剂盒中提供的检测试剂为即用型，读数稳定，检测速度快，完成检测仅需约 10 分钟，无需洗涤细胞，也无需更换或去除培养液。相比于其他常见的细胞活力测定方法，如 Calcein-AT、CCK-8 等，Cell Titer Turbo 2.0 Luminescent Cell Viability Assay 更加简单快捷。

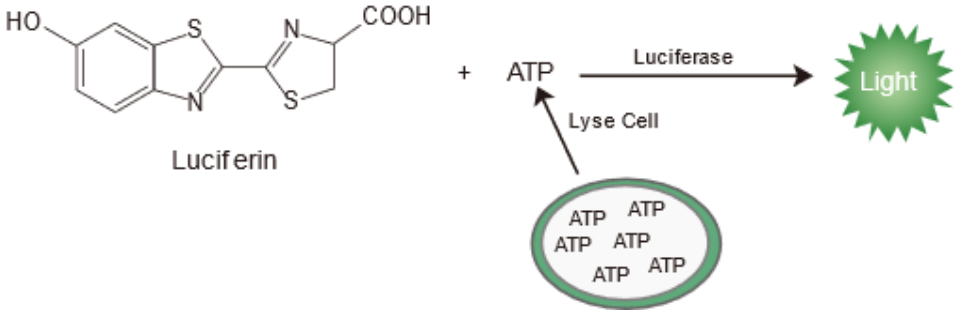

图 1. Cell Titer Turbo 2.0 检测原理图

应用

适用于生物活性因子的活性检测、大规模的抗肿瘤药物筛选、细胞增殖、细胞毒性试验等。

特性

Cell Titer Turbo 2.0 Luminescent Cell Viability Assay 检测灵敏度高、线性范围宽，可兼容少量样品检测以及大量样品的高通量筛选。

- ✓ **方便快速：**试剂盒中提供的检测试剂为即用型，读数稳定，检测速度快，完成检测仅需约 10 分钟；
- ✓ **灵敏度高：**能够检测最低 10nmol 的荧光素酶；
- ✓ **线性范围宽：**96 孔板中，在 50 个至 25,000 个细胞范围内有良好的线性关系，但不同细胞的检测数量上限会有不同；
- ✓ **高通量：**可兼容少量样品检测以及大量样品的高通量筛选。

操作方法

操作简介

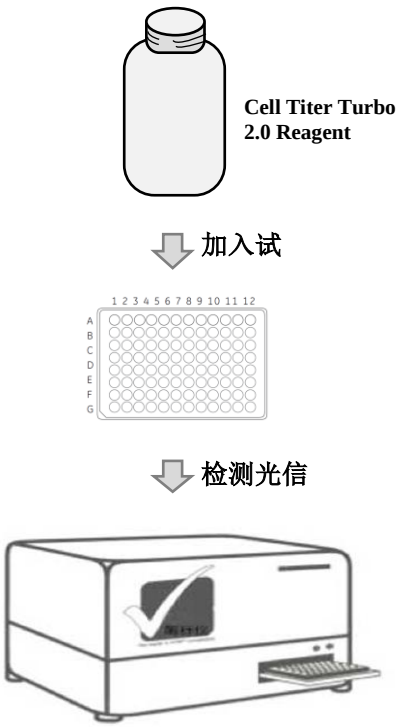

图 2. Cell Titer Turbo 2.0 检测流程图

试剂准备

- **试剂融化：**实验前一天将试剂取出，置于 4℃过夜融化。也可在实验当天将试剂取出，置于室温融化，或放置于 22℃水浴融化，但**需要注意水温不可超过 25℃**。
- **平衡至室温：**若试剂在非室温条件下融化，使用前可将其置于 22℃水浴，确保试剂平衡至室温后再用于检测。

  注：一般针对 5mL 包装需要约 10min；50mL 包装需要约 20min。
- **混匀：**使用前**轻柔颠倒 5 次**使溶液混合均匀。

检测步骤

1、 细胞培养：使用适合进行化学发光检测的 96 孔板，每孔接种 100μL 细胞（根据培养时间确定初始接种的细胞密度，检测时每孔细胞数量不宜超过 10 万个），同时设置不含细胞的培养液的孔作为阴性对照。也可以设置细胞的浓度梯度，以得到最佳的实验结果。37℃，5% CO_2 培养细胞，根据需要在合适的时间加药处理细胞。

2、 （可选）ATP 标准曲线的制作：

把制备的 ATP 标准溶液用 PBS 稀释成适当的浓度梯度，96 孔板每孔加入 100μL 的标准品。

3、 细胞活力检测

1） 融解冻存的发光法检测试剂，并平衡至室温（或 22℃恒温水浴平衡）

2） 取出细胞培养板，室温平衡 10 分钟（或 22℃恒温水浴平衡，时间不宜过长，尽量控制在 30 分钟以内）

3） 96 孔板每孔加入 100μL 检测试剂（由于孔的边缘效应，可能会导致发光信号不稳定，不建议在边缘铺板）

4） 室温振荡 2 分钟，以促进细胞的裂解；

5） 室温放置 10 分钟，使发光信号趋于稳定；

6） 使用多功能酶标仪进行化学发光检测。根据仪器要求设置相应的参数，每孔的检测时间一般为 0.25-1s，具体需根据仪器的检测灵敏度进行适当的调整；

7） 根据化学发光读数计算细胞的相对活力，或根据 ATP 标准曲线计算 ATP 含量从而得出细胞的相对活力。

注：检测效果因细胞的种类不同而异，对于一些 ATP 含量特别高的细胞，在细胞数量达到 100,000 以上可能会出现化学发光读数继续升高，但丧失线性关系。

操作说明

- **温度：**试剂中含有荧光素酶，反复冻融会影响其活性。建议分装后置于-20℃避光保存。试剂及细胞样品使用前均需平衡至室温，以避免酶催化效果的影响；
- **化学因素：**荧光素酶的反应速率和发光强度受化学环境影响。不同类型的培养基和血清中发光强度和衰减速率存在差异。另外，药物含量较高时可能会干扰荧光素酶反应，从而影响发光信号。建议设置含有药物的细胞培养液对照孔以排除溶剂的干扰。
- **光敏感：**本试剂对光敏感，如果储存时暴露在光照下，会加快发光强度的衰减。如果试剂从原来的容器转移，请确保避光保存；
- **ATP 污染：**建议操作时佩戴口罩和乳胶手套，避免接触可能受到污染的表面和设备。操作时避免多次将枪头尖端插入试剂瓶中。
- 本产品仅供研究使用，不适用于人或动物的诊断及治疗用途。

相关产品

产品名称	货 号
Rhinogen® Bio-Glory One-Step 萤火虫荧光素酶分析试剂盒	RA-GL04
Rhinogen® 细胞活性检测染料 CCK-8	QDY-003
Rhinogen® ADCC Reporter Bioassay, Core Kit	RA-CK01
Rhinogen® ADCC Reporter Bioassay, Complete (Raji)	RA-CK02
Rhinogen® ADCC Reporter Bioassay, Complete (WIL2-S)	RA-CK03
Rhinogen® ADCC Reporter Bioassay, Complete (BT474)	RA-CK04
Rhinogen® ADCC Reporter Bioassay, Complete (A431)	RA-CK05

联系我们

如果您需要帮助，我们的客户支持专家可以通过电话和 email 为您提供帮助：

- 电　　话：+86 (0)21-60878333-8093
- 技术支持：bio@titansci.com