

Luminescent Cell Viability Detection Kit 细胞活力检测试剂盒

一、产品概述

Chaselection 细胞活力检测试剂盒（Luminescent Cell Viability，简称 LCV）是运用萤光素酶化学发光系统开发的细胞活力分析方法。通过定量测定细胞裂解后的 ATP 含量来确定有代谢活动的活细胞数量。本方法的基本原理如图 1 所示，试剂盒中萤光素（D-Luciferin）与稳定突变型萤光素酶在细胞裂解后，与细胞中 ATP 进行反应。可以在一定的细胞数量内对活细胞进行定量。

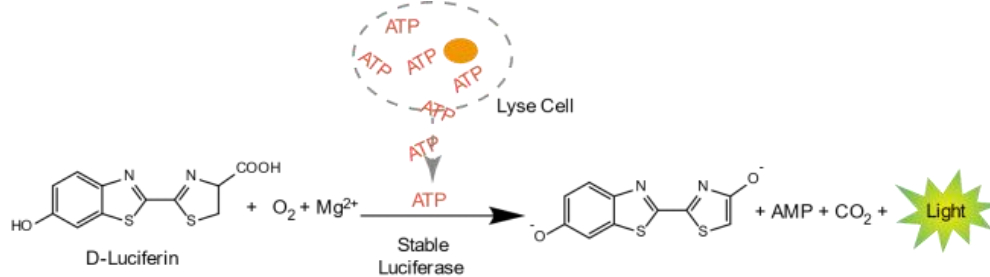


图 1. Chaselection Luminescent Cell Viability 细胞活力检测原理示意图

Chaselection Luminescent Cell Viability 细胞活力检测试剂盒为开盖即用型试剂，只需取与待测样品等体积的试剂加入到含细胞的测试孔中。室温震荡 2-5 分钟使细胞裂解充分以及混合均匀，待室温反应 10 分钟后发光信号达到最强读值后即可进行检测读值。本品为“辉光型”试剂半衰期长达 3-5 h，兼具极佳的灵敏度，适用于高通量的细胞增殖和细胞毒性检测。

二、产品组分

产品货号	产品品名	产品规格
CY074F0010KIT	Luminescent Cell Viability Detection Kit 细胞活力检测试剂盒 (100 tests)	10 mL

该试剂盒底物足够在 96 孔板中以 100 μ L/次进行 100 次检测。推荐使用 100 μ L/孔细胞与等体积的该试剂反应，总反应体积为 200 μ L。

- 试剂盒内包含：1 \times 10 mL Luminescent Cell Viability Detection Reagent

产品货号	产品品名	产品规格
CY074F0100KIT	Luminescent Cell Viability Detection Kit 细胞活力检测试剂盒 (1000 tests)	2*50 mL

该试剂盒底物足够在 96 孔板中以 100 μ L/次进行 1,000 次检测。推荐使用 100 μ L/孔细胞与等体积的该试剂反应，总反应体积为 200 μ L。

- 试剂盒内包含：2 \times 50 mL Luminescent Cell Viability Detection Reagent



产品货号	产品品名	产品规格
CY074F1000KIT	Luminescent Cell Viability Detection Kit 细胞活力检测试剂盒 (10000 tests)	20*50 mL

该试剂盒底物足够在 96 孔板中以 100 μ L/次进行 10,000 次检测。推荐使用 100 μ L/孔细胞与等体积的该试剂反应，总反应体积为 200 μ L。

- 试剂盒内包含：20 \times 50 mL Luminescent Cell Viability Detection Reagent

三、 存储条件

- ✧ -20 $^{\circ}$ C 以下可长期保存，建议在有效期内使用本试剂。
- ✧ 本试剂盒可耐受反复冻融 10 次 ($\geq 90\%$ 活性)。
- ✧ 推荐首次使用时，分装避光冻存于-20 $^{\circ}$ C。

四、 自备材料

单通道移液器或多通道移液器；白色/黑色平底发光检测板；多孔板振板装置；具有发光检测模块的酶标仪。

五、 实验流程

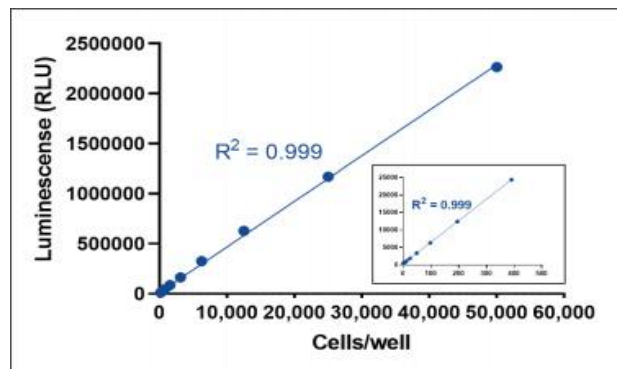
流程	实验阶段	操作步骤
第一步	试剂准备	<ul style="list-style-type: none"> ➤ 将本试剂提前于 4 $^{\circ}$C 或室温进行融化。 (请勿在超 25 $^{\circ}$C 以上进行融化，避免活性减弱) ➤ 试剂平衡至室温后，轻柔颠倒几次使溶液混匀。
第二步	检测	<ul style="list-style-type: none"> ➤ 取出待测细胞培养板，室温放置 30 min 左右，使培养板温度平衡至室温。 ➤ 加入与待测样品等体积的 LCV 试剂。 (推荐吸取 100 μL 试剂加入 100 μL 待测细胞培养物中) ➤ 振荡裂解 2-5 min 使细胞充分裂解混匀，室温放置反应 10 min 使发光信号达到最大。 ➤ 在酶标仪上读取发光信号



六、 注意事项

- ATP 污染:** 环境中存在污染时容易引入外源 ATP, 从而使本底信号升高, 建议操作时注意实验台面整洁, 佩戴好口罩和手套, 分装和使用试剂时注意瓶和盖无污染。
- 混匀:** 本试剂需要与待测细胞在等体积加入后混合均匀, 以使细胞能充分裂解释放 ATP, 得到稳定且强度高且信号。由于微孔板的孔径和深度会影响混合效率, 不同细胞特性不同, 因此需要优化震板方案, 例如可通过延长震荡时间或加大震荡频率来提高混匀和裂解效率。
- 温度:** 萤光素酶的反应速率影响着测试的发光强度和衰减速率, 而温度对酶活的影响很重要。因此在加入试剂前需要将试剂和测试样品在室温平衡充分, 保证检测结果的一致性。以免出现微孔板边缘效应。
- 化学因素:** 不同培养基的组分存在差异, 因此在使用不同类型的培养基和血清, 发光强度和衰减速率会存在差异。此外, 化合物处理细胞时引入的溶剂对信号也有影响, 通过使用含有溶剂的培养基对照孔测试, 常用溶剂 DMSO, 甲醇, 乙醇的终浓度 < 2% 时对信号无显著影响。
- 板型差异:** 不同的测试板测出的发光强度也会不同, 使用黑色测试板, 可以降低穿孔效应, 但光信号损失较大; 使用白色测试板, 可有效降低光信号损失, 但会存在穿孔效应; 只有底透的白色测试板, 方便观察细胞生长状况, 但更容易造成孔间的穿孔效应。
- 本底效应:** 不同的培养基和细胞种类会有一定的本底效应, 需要设置对照组判断。

七、 实验数据



使用 Chaselection 细胞活力检测试剂盒测得的发光信号与培养细胞数量成正比, 线性范围跨越三个数量级。使用含 10% FBS 的 DMEM 培养基, 在 96 板中对 HEK293 细胞从 50,000 个细胞起始进行 2 倍稀释, 并按照“五、实验流程”所述进行检测, 加入试剂 10 分钟后, 使用 Envision 的 Luminescence 程序(程序细节举例 Mirror :Luminescence; Em filter : Luminescence 700; Measurement height:6.5 mm; Measurement time : 1 s) 检测发光信号。每个细胞数制备 2 个复孔。数据显示, 从 25 个 HEK293 细胞开始所得发光信号大于含血清培养基 (不含细胞) 的背景信号的三倍。发光信号与每孔细胞数 (0 至 50,000 个) 间呈线性关系 ($R^2=0.999$)。

Tips: 以上所示数据仅做示例, 实际结果会因所使用酶标仪的性能差异而有所不同。

