

# CellTiter-Glo<sup>®</sup>细胞活力检测系统 简明操作指导

注意：这是节选操作步骤，详细英文说明书见  
[www.promega.com/protocols/](http://www.promega.com/protocols/)

适用产品目录号：G7570,G7571,G7572,G7573

## I. 需自备的材料

- 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）

## II. 试剂准备：

1. 使用前，融化CellTiter-Glo<sup>®</sup>缓冲液，并平衡至室温。为方便起见，可在使用前48小时融化CellTiter-Glo<sup>®</sup>缓冲液并在室温保存。
2. 使用前将冻干粉CellTiter-Glo<sup>®</sup>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<sup>®</sup>缓冲液转移到装有CellTiter-Glo<sup>®</sup>底物的棕色瓶中，配制成酶/底物混合物，即CellTiter-Glo<sup>®</sup>试剂。
4. 注意：必须将整瓶CellTiter-Glo<sup>®</sup>缓冲液倒进CellTiter-Glo<sup>®</sup>底物瓶中。
5. 轻轻震荡混合，摇晃或上下颠倒小瓶使溶液均一。CellTiter-Glo<sup>®</sup>底物应很容易在1分钟内完全溶解。

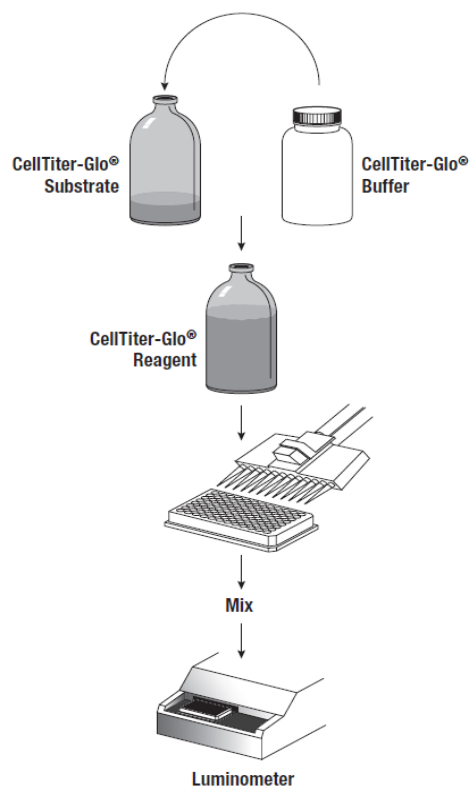
## III. 操作步骤

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100 $\mu$ l/孔，或384孔板25 $\mu$ l/孔。
2. 多孔板应与将使用的发光检测仪匹配。
3. 准备只含培养基不含细胞的对照孔，以得到背景发光值。
4. 在实验孔中加入待测化合物，按合适的条件进行孵育。
5. 将平板及其内容物平衡到室温，大约需要30分钟。
6. 每孔中加入与细胞培养基体积相等的CellTiter-Glo<sup>®</sup>试剂(如96孔板内含100 $\mu$ l/孔的培养基中加100 $\mu$ l试剂;384孔板内加25 $\mu$ l试剂)。
7. 在一个定轨振荡器上混合内容物2分钟，诱导细胞裂解。
8. 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。

9. 检测发光信号。（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。）

### 简易流程图



## CellTiter-Glo<sup>®</sup>细胞活力检测系统简明操作指导

---

### IV. 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1 $\mu$ M ATP (100 $\mu$ l 的1 $\mu$ M ATP 含 $10^{-10}$  摩尔 ATP)。
2. 在培养基中对ATP 进行10 倍系列稀释（1 $\mu$ M 到10nM; 100 $\mu$ l 体积将含有 $10^{-10}$ 到 $10^{-12}$  摩尔的ATP）。
3. 在多孔板的100 $\mu$ l 培养基内制备不同浓度的标准ATP 溶液（384孔板准备25 $\mu$ l）。

**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<sup>®</sup> 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。