

## CellTiter-Lumi™ Steady Plus II发光法细胞活力检测试剂盒

产品编号	产品名称	包装
C0059S	CellTiter-Lumi™ Steady Plus II发光法细胞活力检测试剂盒	100次
C0059M	CellTiter-Lumi™ Steady Plus II发光法细胞活力检测试剂盒	500次
C0059L	CellTiter-Lumi™ Steady Plus II发光法细胞活力检测试剂盒	2500次
C0059XL	CellTiter-Lumi™ Steady Plus II发光法细胞活力检测试剂盒	10000次

### 产品简介:

- 碧云天生产的CellTiter-Lumi™ Steady Plus II发光法细胞活力检测试剂盒(CellTiter-Lumi™ Steady Plus II Luminescent Cell Viability Assay Kit), 简称CTL Steady Plus II发光法细胞活力检测试剂盒或CTL Steady Plus II, 是一种通过化学发光法测定细胞内ATP含量从而用于超高信号稳定性、超高灵敏度、超宽线性范围定量检测活细胞数目的试剂盒。本产品和同类产品相比, 最大的特点是发光信号特别稳定, 1小时内信号整体上下波动范围通常不超过±10%, 特别适用于待测样品数量较多、耗时较长且须前后数据进行比较的多孔板中细胞活力的大批量连续测定, 也特别适用于高通量筛选(high-throughput screening)的自动化操作系统。
- 本产品是CellTiter-Lumi™ Steady Plus II发光法细胞活力检测试剂盒(简称CTL Steady Plus II, 产品编号为C0070)的不同包装版本, 两者的检测效果完全一致。CTL Steady Plus II为即用型液体, 优点是无需配制即可以直接使用, 缺点是长期保存需要置于-80℃, 如果在-20℃保存时间较长后检测效果会逐渐下降; 本产品, 即CTL Steady Plus II, 为CTL Steady Plus的冻干粉版本, 使用前需要使用提供的缓冲液充分溶解底物冻干粉后才能使用, 优点是在-20℃保存特别稳定。
- 本产品的用途与碧云天的同类产品CellTiter-Lumi™ Steady发光法细胞活力检测试剂盒(简称CTL Steady)、CellTiter-Lumi™ Plus发光法细胞活力检测试剂盒(简称CTL Plus)及CellTiter-Lumi™发光法细胞活力检测试剂盒(简称CTL), 以及Promega公司的CellTiter-Glo® 2.0 Assay (简称CTG 2.0)、CellTiter-Glo® Luminescent Cell Viability Assay (简称CTG)类似。本产品用于HeLa细胞的检测效果参考图1A和图1B。CTL Steady Plus的化学发光信号的稳定性显著优于CTL Plus (图1D), 线性范围和CTL Plus相近, 但检测上限和发光强度稍低于CTL Plus (图1C)。

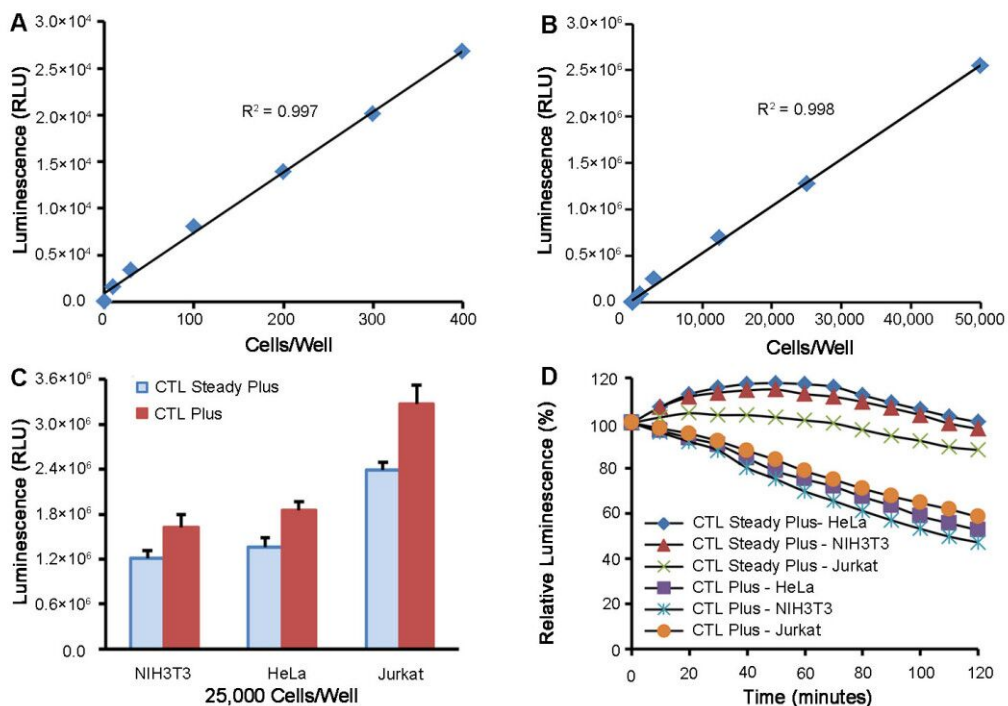


图1. 本产品CellTiter-Lumi™ Steady Plus II发光法细胞活力检测试剂盒(CTL Steady Plus II)和同类产品CellTiter-Lumi™ Plus发光法细胞活力检测试剂盒(CTL Plus)对不同细胞的检测效果。CTL Steady Plus II与碧云天生产的CellTiter-Lumi™ Steady Plus发光法细胞活力检测试剂盒(CTL Steady Plus)的检测效果完全一致。图A和图B为CTL Steady Plus即CTL Steady Plus II对不同数量HeLa细胞在白色96孔板中的检测效果, 图C为CTL Steady Plus即CTL Steady Plus II和CTL Plus对2.5万个/孔NIH3T3、HeLa和Jurkat细胞的发光强度的检测效果对比图, 图D为CTL Steady Plus即CTL Steady Plus II和CTL Plus对2.5万个/孔

NIH3T3、HeLa和Jurkat细胞的化学发光稳定性的检测效果对比图。实际检测效果会因细胞种类、检测仪器等的不同而存在差异，图中数据仅供参考。

- **本产品发光信号特别稳定。**本产品的发光信号稳定性特别好，1小时内信号整体上下波动通常不超过±10%，在发光稳定性方面显著优于同类产品CTL Plus (图1D)，特别适用于待测样品数量较多的96孔板或384孔板中细胞活力的大批量连续测定。发光信号的稳定性可能会因为细胞种类、细胞培养液、外界温度等条件的不同而略有差异。例如对于贴壁的NIH3T3和HeLa细胞，信号强度会随着反应时间的延长先升高再降低，而对于悬浮的Jurkat细胞，信号强度则会随着反应时间的延长持续小幅度的降低，但是通常发光信号在60分钟内整体上下波动范围不超过±10%，在120分钟内信号波动不超过±25% (图1D)，信号半衰期长达5小时之久。
- **本产品检测灵敏度高，线性范围宽，可以在10个至5万个细胞范围内呈现良好的线性关系。**使用本产品检测的细胞数量仅为25个/孔时，发光强度可达空白孔的2倍左右。不同细胞的检测数量上限会有显著不同，对于一些ATP含量特别高的细胞，在细胞数量达到5万个后可能会不呈现线性关系，但化学发光读数还是会继续升高的。如果检测的细胞数量超过5万，且对发光信号的稳定性要求不是特别高，推荐使用检测上限更高的CellTiter-Lumi™ Plus发光法细胞活力检测试剂盒(C0068)或CellTiter-Lumi™ Plus II发光法细胞活力检测试剂盒(C0057)，或者考虑降低细胞接种时的密度。如果检测的细胞数量不超过3万，也可使用性价比更高但线性范围略窄的CellTiter-Lumi™ Steady发光法细胞活力检测试剂盒(C0069)或CellTiter-Lumi™ Steady II发光法细胞活力检测试剂盒(C0058)。如果检测的细胞数量不超过3万，且对发光信号的稳定性要求不是特别高，也可使用性价比更高但线性范围略窄的CellTiter-Lumi™发光法细胞活力检测试剂盒(C0065)或CellTiter-Lumi™ II发光法细胞活力检测试剂盒(C0056)。
- **本产品发光强度高。**对于相同的细胞样品，本产品的发光强度可以达到CTL Plus的约70-95%，实际检测效果会因细胞种类、细胞数量、检测仪器等条件的不同而略有差异。例如对于贴壁的NIH3T3和HeLa细胞的检测，CTL Steady Plus的发光强度可以达到CTL Plus的70-85%，而对于悬浮的Jurkat细胞的检测，CTL Steady Plus的发光强度可以达到CTL Plus的75-95% (图1C)。
- **本产品操作简单，读数稳定，检测速度快，完成检测仅需约10分钟。**本产品比常见的MTT、AlamarBlue、Calcein-AM、WST-1、CCK-8、CCK-F等其它细胞活力测定方法更加简单快捷。只需用试剂盒提供的检测缓冲液把检测底物(冻干粉)充分溶解后配制成CellTiter-Lumi™ Steady Plus II发光法检测试剂后，与培养细胞等体积混合，反应10分钟后即可进行化学发光检测。无需洗涤细胞，也无需更换或去除培养液。并且发光信号非常稳定，通常1小时内信号整体上下波动不超过±10%。
- **本产品稳定性好。**本产品在-20℃可以长期保存，配制CellTiter-Lumi™ Steady Plus II发光法检测试剂后的稳定性也非常好，反复冻融5次对检测效果基本无影响，反复冻融10次检测效果下降不超过10%。CellTiter-Lumi™ Steady Plus II发光法检测试剂在4℃保存3天对检测效果无显著影响，保存7天检测效果下降不超过10%。在室温保存1天，仍可保留80%以上的检测效果。在37℃保存1天，可保留60%以上的检测效果。CellTiter-Lumi™ Steady Plus II发光法检测试剂即使仅保留约50%的检测效果，仍可以满足各种常规检测的要求。
- **本产品使用灵活便捷。**不仅适合少量样品的检测，也非常适合大量样品的高通量筛选(high-throughput screening)检测。
- ATP，作为最重要的能量分子，在细胞的各种生理、病理过程中起着重要作用。ATP是细胞新陈代谢的一个重要指标，也是具有代谢活性细胞的重要标志性分子，并和活细胞数目成良好的线性关系。因此，ATP含量能很好地反应活细胞的数目，即本试剂盒可以通过测定ATP含量来进行细胞计数或检测细胞活力。
- 本试剂盒通过ATP检测细胞活力的原理参考图2。借助ATP依赖的萤光素酶催化的萤光素发光反应，ATP可以通过测定化学发光强度来进行定量。由于ATP含量能很好地反映活细胞的数目，而ATP含量和化学发光强度成正比，这样就可以简单地通过化学发光强度来计算出细胞活力或细胞数目。

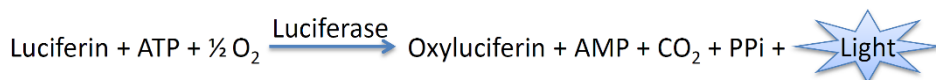


图2. CellTiter-Lumi™ Steady Plus II发光法细胞活力检测试剂盒(CTL Steady Plus)检测ATP的原理图。

- 碧云天的CellTiter-Lumi™系列产品的特点和差异请参考下表。对于待检测的细胞量可能超过3万时，推荐选购Plus系列；对于检测数据的稳定性要求特别高时，推荐选购Steady系列产品；对于希望在-20℃长期稳定保存CTL系列产品的情况，推荐选购II系列的冻干粉包装。

产品名称	CellTiter-Lumi™ II 发光法细胞活力检测试剂盒	CellTiter-Lumi™ Plus II 发光法细胞活力检测试剂盒	CellTiter-Lumi™ II Steady 发光法细胞活力检测试剂盒	CellTiter-Lumi™ Steady Plus 发光法细胞活力检测试剂盒	CellTiter-Lumi™ Steady Plus II 发光法细胞活力检测试剂盒
产品简称	CTL II	CTL Plus II	CTL Steady II	CTL Steady Plus	CTL Steady Plus II
产品编号	C0056	C0057	C0058	C0070	C0059
主要用途	通过化学发光法用于超高灵敏度、超宽线性范围定量检测活细胞活力				
使用便捷程度	比较方便	比较方便	比较方便	非常方便	比较方便
检测灵敏度	非常灵敏	非常灵敏	非常灵敏	非常灵敏	非常灵敏
线性范围	10-30,000个	10-100,000个	10-30,000个	10-50,000个	10-50,000个

	(HeLa细胞)	(HeLa细胞)	(HeLa细胞)	(HeLa细胞)	(HeLa细胞)
信号强度	最高	特别高	高	非常高	非常高
信号稳定性	较稳定	非常稳定	特别稳定	特别稳定	特别稳定
产品稳定性	特别稳定	特别稳定	特别稳定	非常稳定	非常稳定
性价比指数	★★★★★	★★★★★	★★★★★	★★★★★	★★★★★
推荐指数	★★★★★	★★★★★	★★★★★	★★★★★	★★★★★

- 碧云天各种细胞增殖和细胞毒性检测试剂盒的比较和选择，请参考<http://www.beyotime.com/support/cell-proliferation.htm>。
- 对于96孔板，推荐使用100μl细胞培养液和100μl的检测试剂，总体积为200μl，此时本试剂盒每10ml可以进行100次检测。对于384孔板，推荐使用25μl细胞培养液和25μl的检测试剂，总体积为50μl，此时本试剂盒每10ml可以进行400次检测。也可以用其它体积的试剂进行检测，但细胞培养液和检测试剂体积的比例须为1:1。虽然有数据显示适当减少检测试剂的用量也很可能会得到较好的结果，但对于细胞数量特别多、细胞数量特别少或者重复性要求比较高的情况，建议按照推荐用量进行检测。

#### 包装清单：

产品编号	产品名称	包装
C0059S-1	CellTiter-Lumi™ Steady Plus II发光法检测缓冲液	10ml
C0059S-2	CellTiter-Lumi™ Steady Plus II发光法检测底物剂	1瓶
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
C0059M-1	CellTiter-Lumi™ Steady II Plus发光法检测缓冲液	50ml
C0059M-2	CellTiter-Lumi™ Steady Plus II发光法检测底物	1瓶
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
C0059L-1	CellTiter-Lumi™ Steady Plus II发光法检测缓冲液	50ml×5
C0059L-2	CellTiter-Lumi™ Steady Plus II发光法检测底物	5瓶
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
C0059XL-1	CellTiter-Lumi™ Steady Plus II发光法检测缓冲液	100ml×10
C0059XL-2	CellTiter-Lumi™ Steady Plus II发光法检测底物	10瓶
—	说明书	1份

#### 保存条件：

-20℃避光保存，至少两年有效。检测缓冲液和检测底物混合后配制成的CellTiter-Lumi™ Steady Plus II发光法检测试剂，-20℃避光保存，至少一年有效；-80℃避光保存，至少两年有效。

#### 注意事项：

- 对于订购后可能放置较长时间后再使用的，或者对于检测结果的精度要求特别高的，推荐订购本产品，即CellTiter-Lumi™ Steady Plus II；对于订购后短期内使用完毕的，推荐订购使用更加便捷的CellTiter-Lumi™ Steady Plus发光法细胞活力检测试剂盒(C0070)。
- 荧光素酶的活性对温度比较敏感，所以反应前细胞和检测试剂均需平衡至室温后再进行测定。可将检测缓冲液在不超过25℃的室温或20-25℃的水浴中融解并混匀后再与检测底物混合成检测试剂使用。
- 本试剂盒的检测缓冲液和检测底物混合后配制成的CellTiter-Lumi™ Steady Plus II发光法检测试剂中含有荧光素酶，反复冻融会导致其逐渐失活。尽管经测试CellTiter-Lumi™ Steady Plus II发光法检测试剂反复冻融5次对于其检测效果无显著影响，为保证检测试剂的稳定性、取得良好的使用效果，建议现用现配。-没有用完的检测试剂可适当分装保存，但需注意分装的容器不能有ATP污染。反复冻融过程中，可能会导致检测试剂中出现少量沉淀，此时宜平衡至室温，并尽量溶解。如仍有残留的不溶物，可以离心去除后使用，经测试不会影响后续的检测效果。
- 待测药物的溶剂含量较高时可能会干扰荧光素酶反应，从而影响化学发光信号。可以通过设置含有溶剂的细胞培养液对照孔排除溶剂的干扰。经测试，最终反应体系中DMSO含量在2%以内不会对反应产生影响。
- 检测时须使用适合于细胞培养的白色或黑色的96孔板或384孔板。如果使用普通透明的96孔板或384孔板，相邻孔之间会产生相互干扰。推荐使用碧云天的BeyoGold™全黑96孔细胞培养板(FCP966)或BeyoGold™全白96孔细胞培养板(FCP968)。
- 使用说明中提供了检测ATP标准品的方法，实际检测细胞相对活力时通常并不需要检测ATP标准品。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

## 使用说明:

### 1. 细胞的准备:

使用适合进行化学发光检测的96孔板, 每孔接种100 $\mu$ l细胞(如使用384孔板, 每孔接种25 $\mu$ l细胞, 具体用量视不同类型的384孔板而定), 并确保检测时每孔的细胞数量在5万个以内(如使用384孔板宜控制在1万个以内), 同时设置不含细胞的培养液孔作为阴性对照, 按照细胞培养的常规方法培养细胞。如有需要, 可加入药物处理细胞。此外, 如有必要, 也可以设置细胞的浓度梯度, 以便后续确定试剂盒的使用效果。

### 2. ATP标准曲线的设置(选做):

把自备的ATP标准溶液用PBS或细胞培养液稀释成适当的浓度梯度。初次检测可以设置0、10、30、100、300、1000、3000、10,000nM这几个浓度, 96孔板每孔加入100 $\mu$ l的标准品。如有必要, 在后续的实验中可以根据细胞中的ATP含量对标准品的浓度范围进行适当调整。如果用细胞培养液来稀释ATP标准品, 稀释后需立即进行后续的发光检测, 否则培养液中的ATPase等可以消耗ATP的酶会导致ATP含量下降。

### 3. 检测试剂的准备:

a. 融解冻存的CellTiter-Lumi™ Steady Plus II发光法检测缓冲液, 将检测缓冲液全部转移至检测底物瓶中, 旋紧瓶盖后适当颠倒混匀, 当检测底物全部溶解并混匀后即为CellTiter-Lumi™ Steady Plus II发光法检测试剂, 如有必要可适当分装该试剂。经测试反复冻融5次对其检测效果无显著影响。

**注:** 冻干粉状的CellTiter-Lumi™ Steady Plus II发光法检测底物可能会有少量粘附在瓶盖和瓶口, 旋开瓶盖前可以拿起瓶子用瓶底轻轻敲击桌面, 使粉末尽量掉落至瓶底, 然后再轻轻旋开瓶盖, 并注意不要损失冻干粉。

b. 按照96孔板每孔100 $\mu$ l (384孔板每孔25 $\mu$ l)的量, 取适量CellTiter-Lumi™ Steady Plus II发光法检测试剂, 平衡至室温。

### 4. 细胞活力检测:

a. 取出细胞培养板在室温平衡10分钟(通常不宜超过30分钟)。

b. 96孔板每孔加入100 $\mu$ l CellTiter-Lumi™ Steady Plus II发光法检测试剂(384孔板每孔25 $\mu$ l)。

c. 室温振荡2分钟, 以促进细胞的裂解。

d. 室温(约25°C)孵育10分钟, 使发光信号趋于稳定。

e. 使用具有检测化学发光功能的多功能酶标仪进行化学发光检测。请根据仪器要求设置相应的参数, 每个孔的检测时间一般为0.25-1秒或更长时间, 具体需根据仪器的检测灵敏度进行适当的调整。

f. 根据化学发光读数直接计算细胞的相对活力, 或根据ATP标准曲线计算出ATP的量从而计算出细胞的相对活力。对于培养细胞和ATP标准品的检测效果可以参考图1和图3, 细胞在0-50,000个细胞/孔的细胞密度范围内有良好的线性关系, ATP标准品0-10,000nM浓度范围有良好的线性关系。**注:** 检测效果因细胞的种类不同而有所不同, 对于一些ATP含量特别高的细胞, 在细胞数量达到50,000个后可能会不呈现线性相关, 但化学发光读数还是会继续升高的。

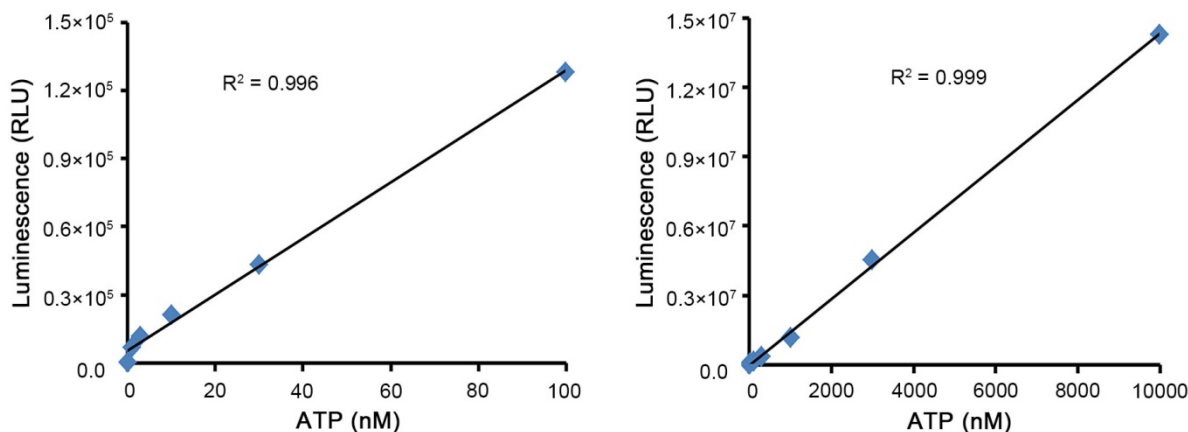


图3. CellTiter-Lumi™ Steady Plus II发光法细胞活力检测试剂盒(CTL Steady Plus)对ATP标准品的检测效果。实际检测效果会因检测仪器等的不同而存在差异, 图中数据仅供参考。

## 常见问题:

### 1. Luminometer和荧光分光光度计有何不同?

荧光分光光度计检测的样品本身不能发光, 样品需要由特定波长的激发光激发, 然后才能产生荧光并被荧光分光光度计检测。Luminometer检测的样品本身可以发光, 不需要激发光进行激发。也就是说luminometer是检测化学发光(萤光)的仪器。有些型号的荧光分光光度计也具有luminometer的功能, 即也可以检测化学发光。您所使用的荧光分光光度计能否用于化学发光的测定请仔细阅读该仪器的说明书。

### 2. 可以进行萤光素酶报告基因检测的仪器是否就可以用于本试剂盒的检测?

是。萤光素酶报告基因的检测原理和本试剂盒的原理相同, 可以用相同的仪器测定。

## 相关产品:

产品编号	产品名称	包装
C0056S	CellTiter-Lumi™ II发光法细胞活力检测试剂盒	100次

C0056M	CellTiter-Lumi™ II发光法细胞活力检测试剂盒	500次
C0056L	CellTiter-Lumi™ II发光法细胞活力检测试剂盒	2500次
C0056XL	CellTiter-Lumi™ II发光法细胞活力检测试剂盒	10000次
C0057S	CellTiter-Lumi™ Plus II发光法细胞活力检测试剂盒	100次
C0057M	CellTiter-Lumi™ Plus II发光法细胞活力检测试剂盒	500次
C0057L	CellTiter-Lumi™ Plus II发光法细胞活力检测试剂盒	2500次
C0057XL	CellTiter-Lumi™ Plus II发光法细胞活力检测试剂盒	10000次
C0058S	CellTiter-Lumi™ Steady II发光法细胞活力检测试剂盒	100次
C0058M	CellTiter-Lumi™ Steady II发光法细胞活力检测试剂盒	500次
C0058L	CellTiter-Lumi™ Steady II发光法细胞活力检测试剂盒	2500次
C0058XL	CellTiter-Lumi™ Steady II发光法细胞活力检测试剂盒	10000次
C0059S	CellTiter-Lumi™ Steady Plus II发光法细胞活力检测试剂盒	100次
C0059M	CellTiter-Lumi™ Steady Plus II发光法细胞活力检测试剂盒	500次
C0059L	CellTiter-Lumi™ Steady Plus II发光法细胞活力检测试剂盒	2500次
C0059XL	CellTiter-Lumi™ Steady Plus II发光法细胞活力检测试剂盒	10000次
C0065S	CellTiter-Lumi™发光法细胞活力检测试剂盒	100次
C0065M	CellTiter-Lumi™发光法细胞活力检测试剂盒	500次
C0065L	CellTiter-Lumi™发光法细胞活力检测试剂盒	2500次
C0065XL	CellTiter-Lumi™发光法细胞活力检测试剂盒	10000次
C0068S	CellTiter-Lumi™ Plus发光法细胞活力检测试剂盒	100次
C0068M	CellTiter-Lumi™ Plus发光法细胞活力检测试剂盒	500次
C0068L	CellTiter-Lumi™ Plus发光法细胞活力检测试剂盒	2500次
C0068XL	CellTiter-Lumi™ Plus发光法细胞活力检测试剂盒	10000次
C0069S	CellTiter-Lumi™ Steady发光法细胞活力检测试剂盒	100次
C0069M	CellTiter-Lumi™ Steady发光法细胞活力检测试剂盒	500次
C0069L	CellTiter-Lumi™ Steady发光法细胞活力检测试剂盒	2500次
C0069XL	CellTiter-Lumi™ Steady发光法细胞活力检测试剂盒	10000次
C0070S	CellTiter-Lumi™ Steady Plus发光法细胞活力检测试剂盒	100次
C0070M	CellTiter-Lumi™ Steady Plus发光法细胞活力检测试剂盒	500次
C0070L	CellTiter-Lumi™ Steady Plus发光法细胞活力检测试剂盒	2500次
C0070XL	CellTiter-Lumi™ Steady Plus发光法细胞活力检测试剂盒	10000次

Version 2021.08.23