

CTF-NB™ Fluorescent Cell Viability Assay Kit

CTF-NB™ 荧光细胞活力检测试剂盒说明书

(L1005, L1006, L1007)

一. 产品描述

细胞活力检测有多种方法，如检测染料排除的，检测 ATP 产生的，检测酶对底物降价活性的等。荧光素酶检测法应用比较广泛，是基于活细胞产生 ATP 的能力的。由于是细胞检测，有时需要有内参对照，由此产生 multiplex 分析需求，即对同一多种分析方法同时检测，相互不干扰，彼此检测机理不同，如此可以进行相关对比，从而排除实验因素外的数据差异。国外 CellTiter Fluor (CTF) 类产品就是基于这样的原理设计的。本公司自行研发推出了同类的荧光细胞活力检测试剂盒

(Fluorescent Cell Viability Assay Kit, CTF-NB™)，性能上与国外品牌产品无明显差异。本产品是基于细胞蛋白酶对多肽产物的降价，产生荧光信号。细胞膜完整性受损时，该蛋白酶就失去了对底物的降价活性。CTF-NB™ 与荧光素酶试剂盒检测原理不同，检测方法也不同，其检测灵敏度次于荧光素酶法，但是可以检测到更早期的轻微的细胞损害，两个检测相容性好，可以进行 multiplex 检测。

二. 产品组成

蛋白酶底物，缓冲液混合后灌装于 10 ml 或 100 ml 的棕色瓶中及 2ml 管中，规格如下：

目录号	CTF 底物	CTF 缓冲液	可检测的 96-孔板孔数	可检测的 384-孔板孔数
L1005	100 μl	10 ml	100 wells	500 wells
L1006	5 x 100 μl	5 x 10 ml	500 wells	2,500 wells
L1007	2 x 500 μl	2 x 50 ml	1,000 wells	5,000 wells

三. 实验步骤

1. 细胞准备

- 1) 在 96 孔或 384 孔细胞培养板铺合适密度的待检测细胞。建议使用白板。
- 2) 准备待检化合物。将合适浓度的待检测化合物加到细胞板孔中。培养液中有有机溶剂浓度保持在 1~2% 以下。设立未加化合物的对照组。根据项目需求继续培养合适的时间。

2. 细胞活力检测

- 1) 取出 CTF-NB™ 细胞活力检测试剂，在室温平衡 20 分钟。轻摇混匀。
- 2) 配制 CTF 反应液：CTF 底物是 100x 的，用 CTF 缓冲液配成 1x 反应液，充分混匀，与待检测细胞等体积混合使用。
- 3) 取出待测细胞培养板，在室温平衡 20 分钟。
- 4) 向培养板孔内加入等体积的 CTF 反应液，轻摇 20 秒钟混匀，避光 37 °C 反应 60~90 分钟。
- 5) 在读板仪上读取荧光信号，激发波长 380nm，发射波长 510nm。
- 6) 根据需要，继续进行下游的 multiplex 分析。

四. 储存条件

CTF-NB™ 细胞活力检测试剂盒储存于 -20°C 及以下。未用完的 CTF 反应液需避光保存于 4 °C，不超过 24 小时。

五. 其它注意事项

1. 试剂量：非经严格验证，不建议随意改变反应试剂用量。如使用 96 孔反应板，一般建议 50μl 培养液加等体积 CTF 反应液，后续检测再加与 CTF 反应液等体积的 multiplex 检测反应液（如 CTG 反应液）。其它反应板作对应体积调节。建议将底物分装，每次从底物 stock 新鲜配制反应液。
2. 必要时调整培养板反应孔内的实际剩余培养液体积，以保证 multiplex 分析总体积不超过 200 μl（96 孔板）或 40 μl（384 孔培养板）。
3. 读板时间：在加入试剂并于 37 °C 温育 30 分钟后，可以进行读板，但是其检测灵敏度低于 37 °C 温育 60 分钟或 90 分钟的结果。