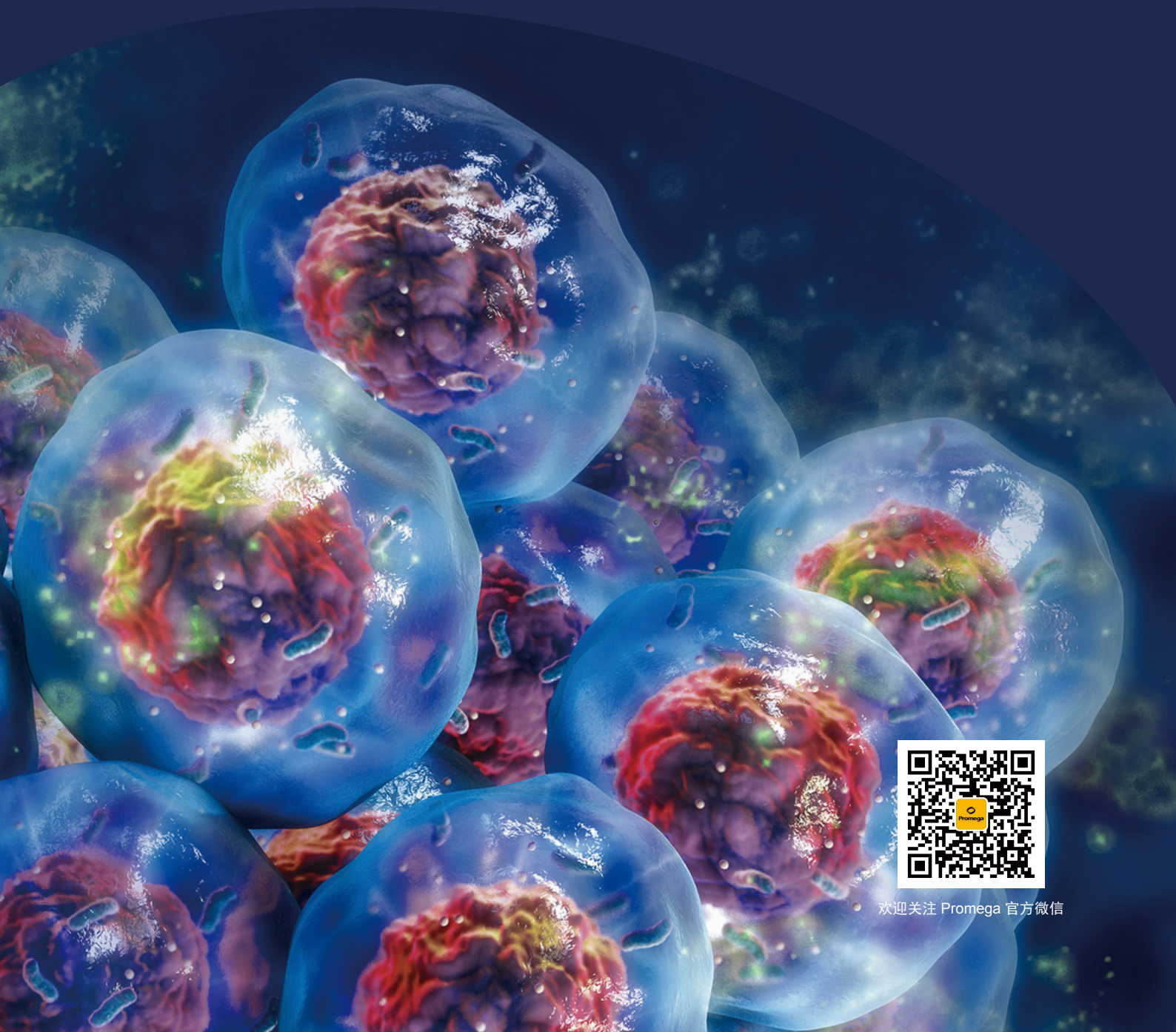


3D Cell Analysis

3D 培养细胞检测解决方案



欢迎关注 Promega 官方微信

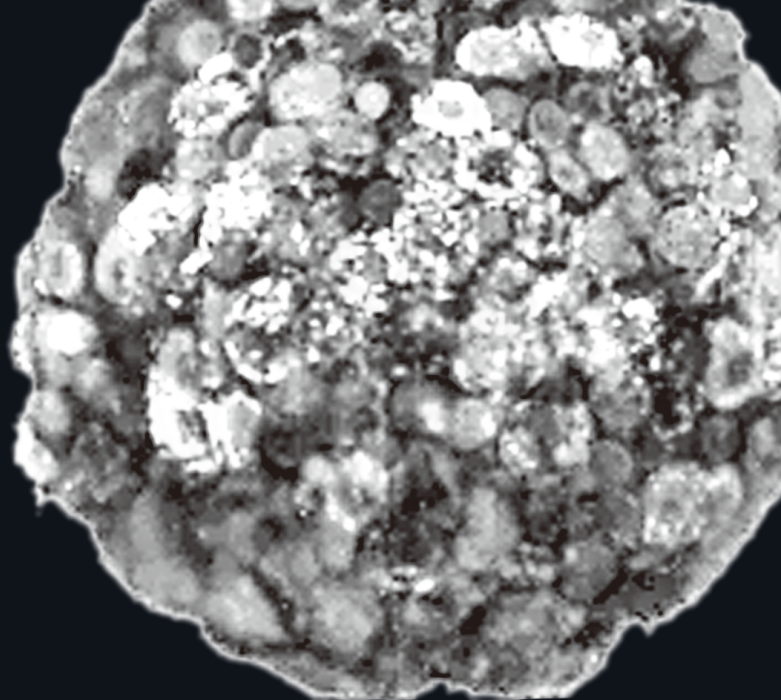
目 录

1. 什么是 3D 细胞培养	3
2. 3D 细胞培养的应用	4
3. 3D 细胞培养的分类	5
4. 3D 培养细胞的检测	6
1) 细胞健康检测	7
• 细胞活性检测	8
• 细胞凋亡检测	10
• 细胞毒性检测	12
2) 代谢检测	14
• 二核苷酸检测系统	15
• 能量代谢检测系统	16
• 氧化应激检测系统	17
5. 检测仪器	19

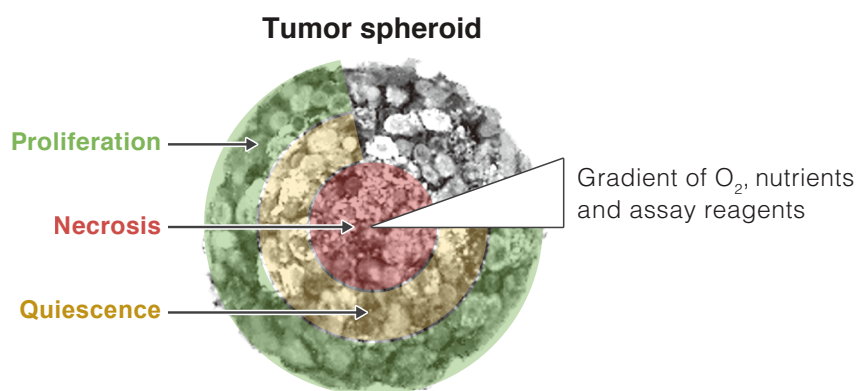
3D

Cell Culture

3D 细胞培养是能在细胞培养过程中为细胞提供一个更加接近体内生存条件的微环境的细胞培养技术。



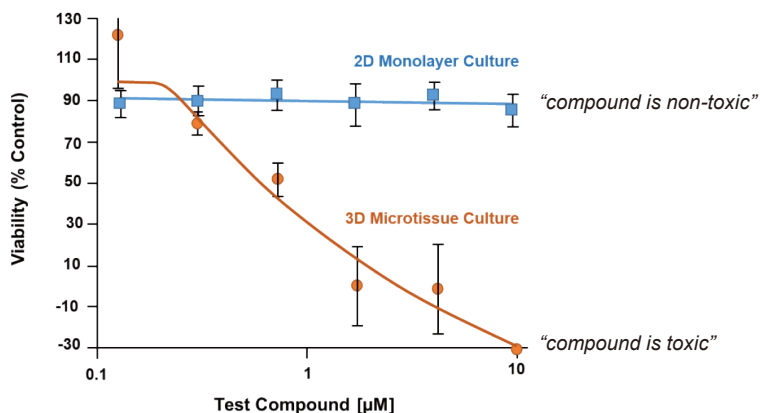
■ 什么是 3D 细胞培养？



很长一段时间以来，科学家们一直依靠平板培养的 2D 细胞来研究细胞和疾病的机制。2D 细胞模型对于细胞培养和处理当然简单且经济。然而，我们可以看到在过去的十年里，3D 细胞培养越来越受欢迎，因为它们生理上更为相关，更能代表体内组织。仔细思考，我们体内没有一种细胞以独立于其他细胞或组织的形式进行单层生长。相反，大多数细胞自然存在于复杂的三维结构中，包括细胞外基质中的不同细胞类型。众多的细胞 - 细胞和细胞 - 基质相互作用都对它们的行为有着深刻的影响。此外，2D 单分子膜可以均匀地获得营养和氧气，而肿瘤等细胞团则不是这样。3D 肿瘤球体更能代表体内肿瘤，与外层相比，内部细胞获得营养和氧气的机会更少，形成自然梯度。

类器官、球状体和 3D 细胞模型研究在包括疾病建模和再生医学在内的许多应用中表现出了巨大的潜力。相对于 2D 模型，类器官和球状体等 3D 细胞模型使我们有机会在生理学相关背景下更好地理解生物学的复杂性。经过验证的实验方案和教育资源增强了我们对于培养和分析类器官和球状体的信心，引领 3D 模型取得成功。

■ 为何要使用 3D 培养细胞模型？

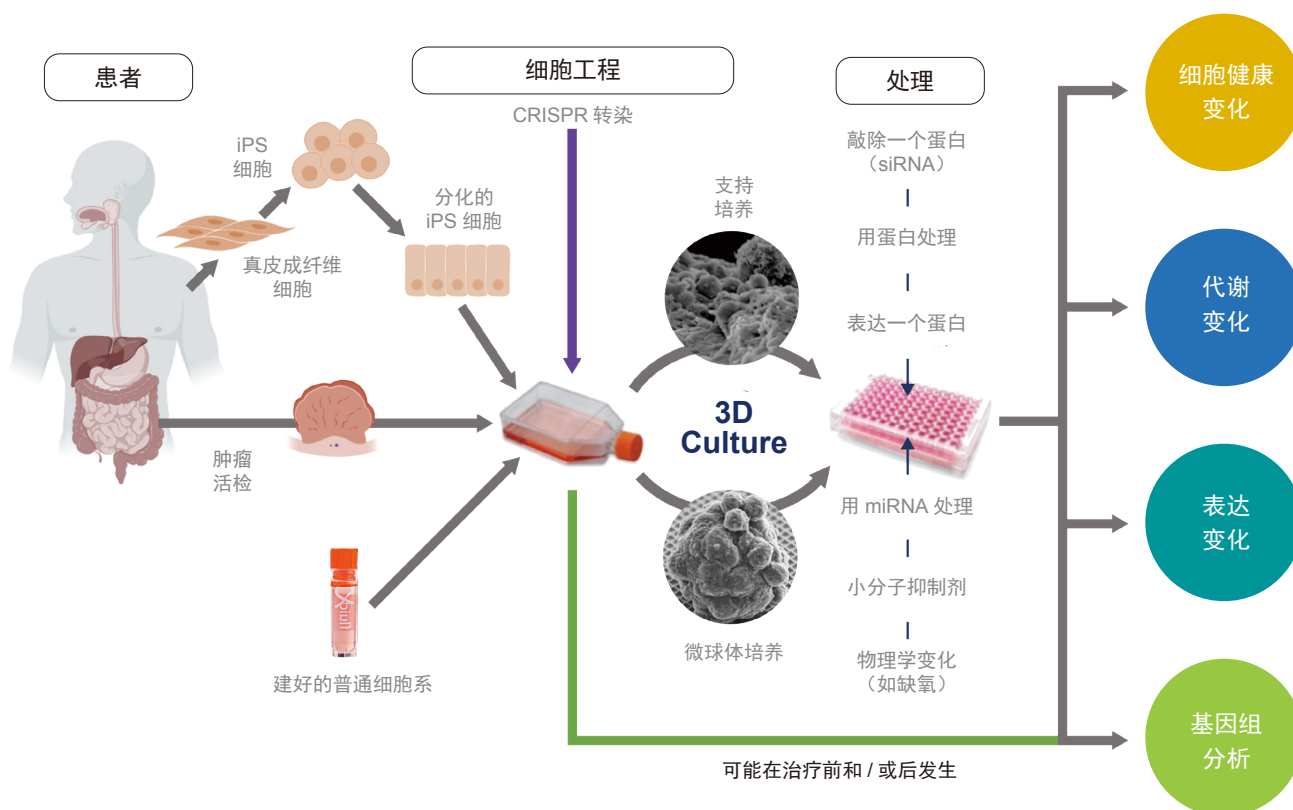


- 3D 培养物更好地模拟组织样结构
- 能够表现出不同的细胞功能
- 可以共培养两种或多种不同的细胞类型
- 可模拟微环境条件，如缺氧和营养梯度
- 3D 培养能够独立评估微环境的不同特征如何调节组织器官发生和疾病
- 更好地预测药物治疗的体内反应
- 3D 培养是基础、转化和临床研究的自然整合点

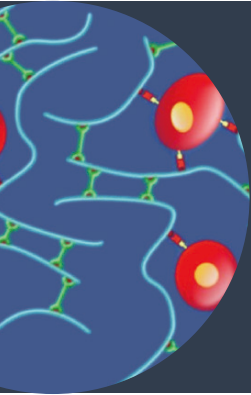
■ 3D 细胞培养的应用

3D 细胞模型越来越多地被用来了解疾病机制和药物研发治疗。这个过程可能涉及从患者身上提取组织细胞进行 3D 培养，如肿瘤类器官。3D 培养物可以用来进行小分子药物筛选或者通过基因操纵来了解疾病的途径。与 2D 培养相比，3D 细胞培养能够更准确地预测药物治疗的疗效或毒性。

监测 3D 培养物的生物学变化



■ 3D 细胞培养分类



3D 细胞支架培养

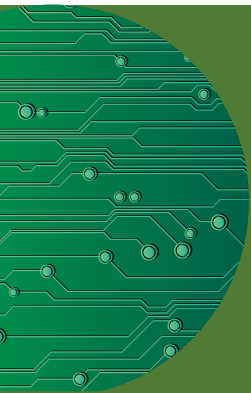
3D 细胞可以在支撑支架内培养，以便在各个方向生长。常用类型包括：

- **水性凝胶：**含有交联聚合物链网络的聚合物材料，可以吸收和保留水。水凝胶可以从动物（Matrigel®、胶原蛋白）或植物（海藻酸钠 / 琼脂糖）中提取，也可以从化学品（Qgel®）中合成。
- **惰性基质：**由聚苯乙烯制成的海绵状膜，含有细胞增殖和生长的孔。

无支架的 3D 细胞培养

3D 培养物可以在没有支架的情况下生长。无支架方法依赖于细胞自组装成团簇或球体。常用的无支架方法包括：

- **低粘附板：**板上涂有亲水性聚合物，防止细胞粘附在表面，使细胞聚集在一起，形成自己的细胞外基质（ECM）。
- **微图案化表面：**对塑料表面进行修饰，以提供一个或多个微图案化表面，从而诱导细胞以团簇形式生长。
- **悬浮液滴：**将细胞放置在悬浮液滴中，使细胞聚集并在液滴底部形成球体。

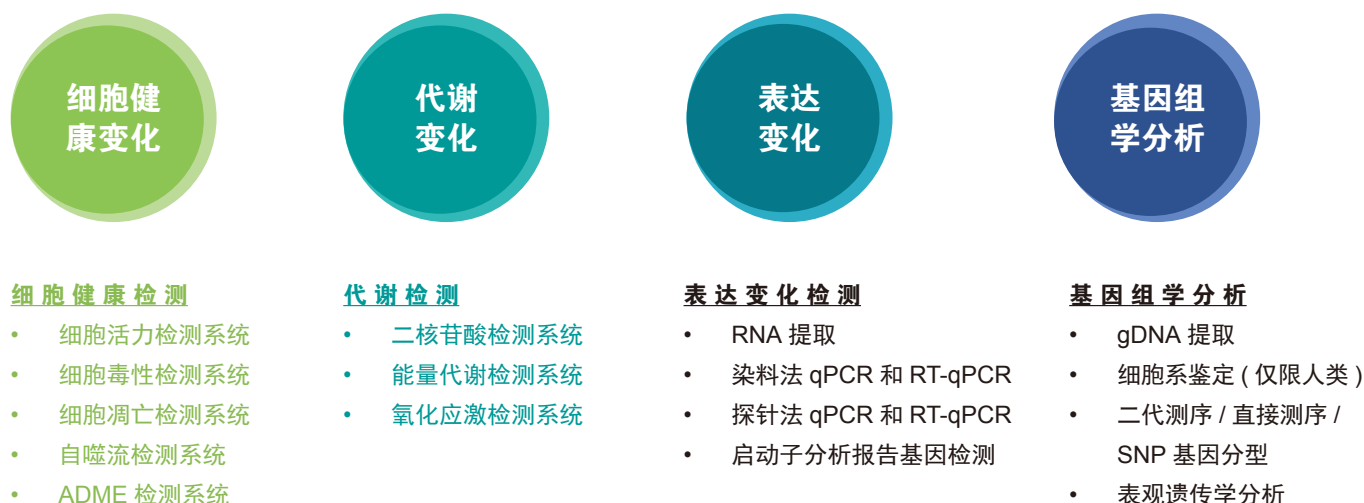


Organ-on-a-Chip 微流控系统

Organ-on-a-Chip 是一种三维微流控细胞培养芯片，其设计用于模拟器官的生理。3D 细胞生长在微芯片内部的支架上。微小的通道允许液体（微升到皮升）在细胞内运输和分配营养物质或其他化学物质。

■ 3D 培养细胞学检测的挑战

使用 3D 培养的一个挑战是找到适合你细胞类型的分析方法。大多数现有的基于细胞的分析最初是为 2D 单层或悬浮细胞设计，可能并不考虑三维结构的大小或质量，这可能限制细胞裂解或试剂的化学成分设计。在许多情况下，细胞外基质（ECM）可以防止试剂渗透到球体的中心。这就是为什么为您的特定 3D 模型系统优化和验证基于细胞的分析是至关重要的。Promega 为您提供用于 3D 培养细胞模型从细胞健康分析到基因组学分析的多种分析方法，助力您的研究。这里我们将主要为您介绍细胞健康检测系统与细胞代谢检测系统。



■ 3D 培养检测设计与优化应考虑的因素

3D 培养物的体积是否影响检测的效果？

应思考下面几个方面...

- 细胞裂解
- 成像的限制
- 非裂解性探针试剂的穿透性
- 细胞质量可能影响检测试剂的化学反应

■ 3D 培养参考文献

1. **Three-dimensional organotypic culture: experimental models of mammalian biology and disease**, Eliah R. Shamir & Andrew J. Ewald, *Nature Reviews Molecular Cell Biology* **volume15**, pages647–664 (2014)
2. **The third dimension bridges the gap between cell culture and live tissue**. Francesco Pampaloni, Emmanuel G. Reynaud & Ernst H. K. Stelzer, *Nature Reviews Molecular Cell Biology* **volume 8**, pages839–845 (2007),

3D 细胞健康检测

性能参数	细胞活力检测		细胞凋亡检测		细胞毒性检测	
	检测试剂	检测参数	检测试剂	检测参数	检测试剂	检测参数
检测类型	CellTiter-Glo® 3D Cell Viability Assay	RealTime-Glo™ MT Cell Viability Assay	Caspase-Glo (R) 3/7 3D Assay System	RealTime-Glo™ Apoptosis and Necrosis Assay	LDH-Glo™ Cytotoxicity Assay	CellTox™-Green
	发光法，裂解法	发光法，实时检测	发光法，裂解法	发光法，实时检测	发光法，活细胞检测	荧光法，实时检测
检测样品类型	细胞	细胞	细胞	细胞	细胞培养基上清	细胞
	检测细胞中的ATP	检测细胞的还原电位	检测细胞中的Caspase3/7 活性	检测磷脂酰丝氨酸 (PS) 膜外翻和细胞膜完整性	检测细胞中的LDH 释放	检测细胞膜完整性
检测步骤	均质一步法	一步法实时监测	均质一步法	一步法实时监测	均质一步法	一步法实时监测
	30 分钟	——	0.5-3 小时	——	0.5-1 小时	——

3D 细胞活力检测 -ATP 裂解检测法

CellTiter-Glo® 3D Cell Viability Assay

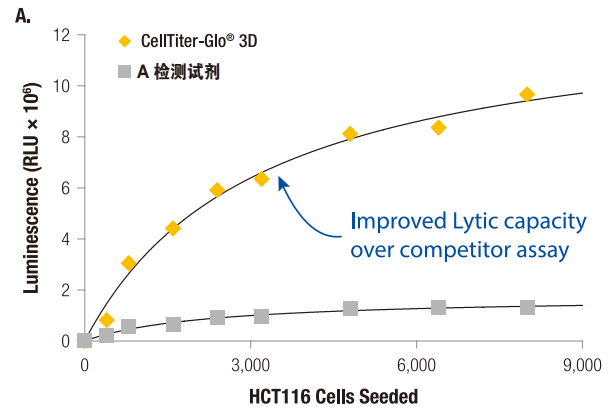
CellTiter-Glo® Luminescent Cell Viability Assay 是基于 ATP 检测的快速细胞活力检测法。在国内外被广泛应用和公认的高灵敏度发光检测法，细胞活力检测的金标准。而 **CellTiter-Glo® 3D Cell Viability Assay** 基于经典 CellTiter-Glo® 检测原理，专门为检测 3D 微组织球的细胞活力而优化。该检测提供的试剂可以高效的渗透至大的细胞球，相比常规细胞活力检测试剂，具有更强的裂解能力，从而为细胞活力的测定提供更加准确的结果。了解更多 CellTiter-Glo® 3D Cell Viability Assay 的信息请扫描右侧二维码。



应用

已成功用于多种方式培养的 3D 微组织的活力检测，包括：

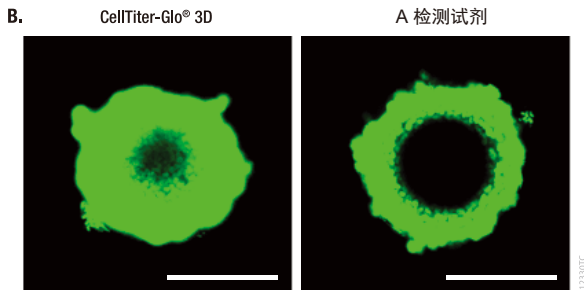
- 细胞悬滴培养板 (hanging-drop plate)
- 超低吸附细胞培养板
- Matrigel™ 包被的细胞培养板
- 琼脂糖包被细胞板
- 甲基纤维素覆盖培养液
- Alvetex® 三维细胞培养体系



将不同数量的 HCT116 细胞 (RPMI 培养基 +10% FBS) 接种在 InSphero GravityPLUS™ 96- 孔悬滴培养板，培养 4 天。

图 A. 在微组织培养孔中，加入与培养基等体积的 CellTiter-Glo® 3D 或其他厂家的 A 检测试剂，震荡混匀 5 分钟后，室温孵育 30 分钟，应用 GloMax® 发光检测仪读数。

图 B. 2X CellTox™ 绿色荧光染料 (结合于膜完整性受损的细胞的双链 DNA) 提前预混在 CellTiter-Glo® 3D 检测试剂 (左) 或 A 检测试剂 (右) 中，后共同加入细胞培养孔。震荡混匀 5 分钟后，室温孵育 30 分钟，应用激光共聚焦显微镜拍照。绿色荧光染色显示裂解的细胞。微组织直径为 300µm。



产品列表

产品	规格 (96 孔板)	目录号
CellTiter-Glo® 3D Viability Assay	100 assays	G9681
	10X100 assays	G9682
	1,000 assays	G9683

3D 细胞活力检测 - 细胞还原电位实时监测法

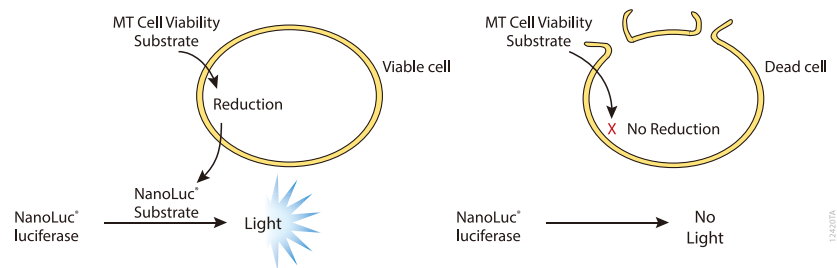
RealTime-Glo™ MT Cell Viability Assay

非裂解性、均质生物发光法细胞活力检测系统，可检测细胞还原电位继而反应出细胞的代谢情况，实时监测培养基中的活细胞数量。试剂最长可在 72 小时内保持性能稳定，对活细胞无毒性，无需洗涤细胞，去除培养基，或加入其它试剂，即可完成活细胞数量检测。试剂本身的非裂解的特性使其可在同一细胞培养孔中持续监测细胞，从而减少细胞用量和细胞培养的成本，细胞也可用于下游应用，包括多重检测和核酸分析。

产品	规格	目录号
RealTime-Glo™ MT Cell Viability Assay	100 assays	G9711
	10 × 100 assays	G9712
	1,000 assays	G9713

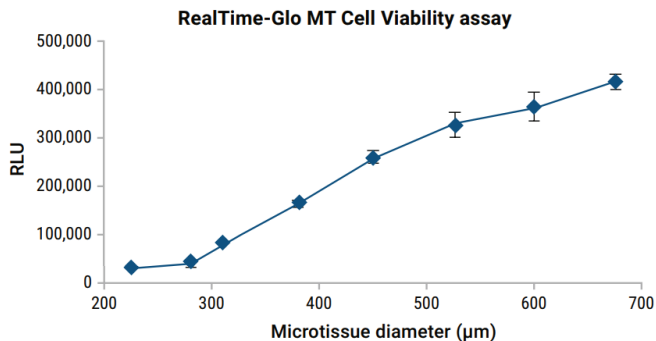
应用：

- 确定细胞活力。
- 确定上游分子应用的可行性。
- 分析细胞生长的差异。
- 分析药物效力和有效性。
- 确定细胞毒性的发生。



检测原理：活细胞可将特异性底物前体还原而产生 NanoLuc® luciferase 底物并从细胞中扩散到外周的细胞培养基中，与 NanoLuc® Luciferase 快速反应而产生发光信号。信号强度与活细胞数量相关。

不同尺寸微组织的细胞活力与发光信号相关



左图：细胞在 McCoy's 培养基中 2 倍梯度稀释，浓度从 2.5×10^3 cells/ml 到 3.2×10^5 cells/ml，并根据 GravityPLUS™ 3D Culture and Assay Platform Technical Manual 来培养。RealTime-Glo™ Reagent (100μl) 加入到微组织中。加入 10 分钟后用 GloMax® Discover System 检测发光信号。图中的数值为每个细胞浓度三个复孔的平均值。Error bars 为 ± 1 标准偏差。

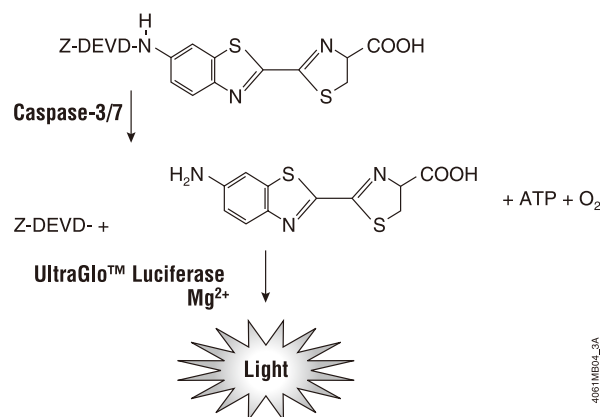
3D 细胞凋亡检测 -Caspase 活性裂解检测法

Caspase-Glo® 3/7 3D Assay

此试剂盒为检测 Caspase-3/7 活性的均质发光检测方法。试剂盒可检测 3D 培养细胞中的 Caspase-3 和 Caspase-7 的活性，用于凋亡研究，也可与其他细胞学检测联用进行多重检测或抑制剂筛选。

检测原理

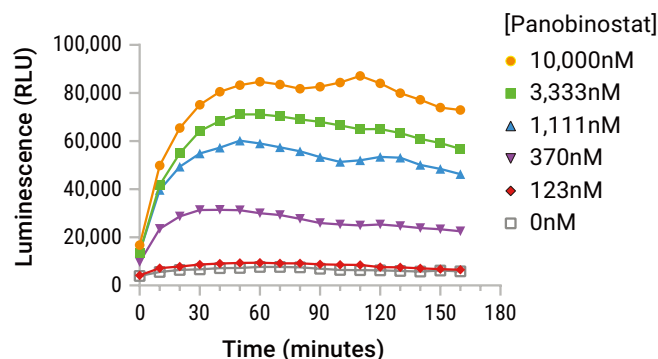
试剂盒中提供了 Caspase-3/7 DEVD- 氨基荧光素发光前体底物，以及专利的耐热荧光素酶，该试剂针对 Caspase-3/7 活性、荧光素酶活性和细胞裂解进行了优化。仅需加入一种 Caspase-Glo® 3/7 3D 试剂，就能使细胞裂解，随后 caspase 将底物剪切，释放出的游离氨基荧光素被荧光素酶作用后产生一种“辉光型”的发光信号。该信号的强度与 Caspase-3/7 的活性成正比。



性能参数

检测类型	发光法（辉光型）
检测标志物	Caspase-3/7 酶活性
应用	凋亡研究；抑制剂筛选；兼容多重检测
样品类型	细胞系，原代细胞，纯酶
检测步骤	一步法，均质检测
操作时间	0.5-3 小时
灵敏度	100 个凋亡细胞 (96 孔板)
性能优异	Z' 值及信噪比高

检测 3D 培养细胞的细胞凋亡



上图：检测信号动力学。使用帕比司他 (panobinostat) 或相应溶媒对照的连续稀释液处理 HCT-116 球状体 (平均直径为 480 μm) 24 小时。加入 Caspase-Glo® 3/7 3D 试剂，将溶液短暂混合后，使用 GloMax® Discover 微孔板读数仪反复多次收集信号。信号通常在 30-40 分钟内达到平台期，随后发生缓慢、可预测的衰减。

产品列表

产品	规格 (96 孔板)	目录号
Caspase-Glo® 3/7 3D Assay	100 assays	G8981
	1,000 assays	G8982
	10X100 assays	G8983

3D 细胞凋亡检测 - 磷脂酰丝氨酸 (PS) 膜外翻和膜完整实时监测法

RealTime-Glo™ Apoptosis and Necrosis Assay

RealTime-Glo™ Apoptosis and Necrosis Assay 是一种简单，非裂解性的实时监测凋亡进程的方法。无需处理多重多孔板，复杂的处理过程和特殊的检测仪器。只需具有发光和荧光检测功能的多功能读板仪即可。此方法的原理是检测磷脂酰丝氨酸 (PS) 膜外翻来检测凋亡和检测膜完整性的丧失来测定继发性坏死。通过一个简单的发光信号来检测 Annexin V 与 PS 结合，通过一个荧光信号的检测来测定坏死。

检测原理



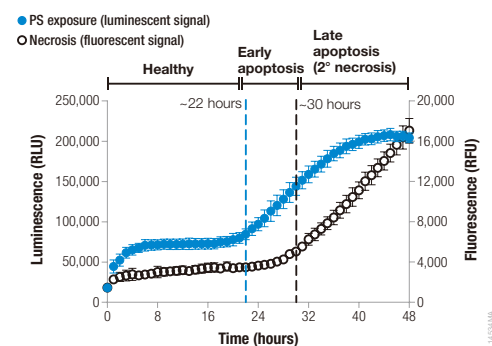
特点

- 操作简单，将检测试剂加入多孔板，然后反复读取即可。
- 持续监测细胞状态的变化。
- 适用于多种类型的培养细胞。
- 可实时检测剂量依赖和时间依赖的凋亡进程。
- 可与其他检测试剂叠加使用，获得更多毒性发生机制的信息。
- 多孔板检测，检测通量可放大。

产品列表

产品	规格	目录号
RealTime-Glo™ Annexin V Apoptosis and Necrosis Assay	100 assays	JA1011
	1,000 assays	JA1012

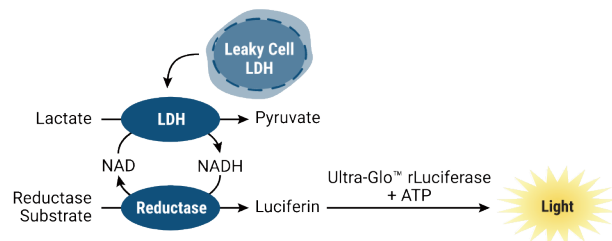
A. 在化合物处理后的凋亡及继发性坏死进程



3D 细胞毒性检测 - 乳酸脱氢酶释放检测法

LDH-Glo™ Cytotoxicity Assay

LDH-Glo™ Cytotoxicity Assay 是一种通过对细胞膜破损释放到培养基中的乳酸脱氢酶（LDH）进行定量的生物发光、多孔板检测方法。与比色和荧光法相比，生物发光法更加灵敏，可以对从少量细胞，包括原代细胞和 3D 细胞，释放的 LDH 进行精确检测。该方法仅需从每个处理孔中移取少量细胞培养基（2-5ul），使得实验者可以在同一个孔进行多时间点取样，得到更多数据，并利用剩余培养基和细胞进行其他细胞学实验。



检测原理：损伤细胞释放出 LDH，催化乳酸盐氧化，并伴随 NAD^+ 还原为 NADH。还原酶利用 NADH 和还原酶底物生成萤光素，Ultra-Glo™ 重组萤光素酶可将其转化为生物发光信号。产生的生物发光信号与 LDH 含量成正比。

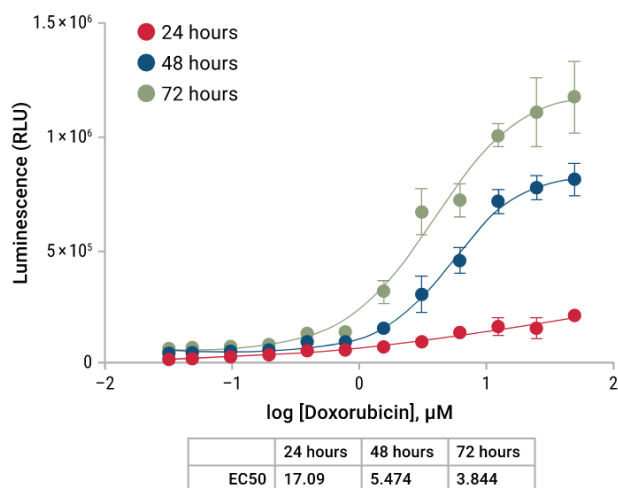
特点

- 简单、更灵敏地检测 LDH 的方法，确定细胞毒性。
- 检测从少量细胞，包括 3D 细胞模型中，释放的 LDH。
- 跨时间点监测同一样本的细胞毒性。
- 可与其它细胞检测法进行多重检测，每孔可得到更多数据。

性能参数

检测类型	发光法（辉光型）
检测标志物	LDH 释放
应用	3D 模型检测；药物筛选；兼容多重检测
样品类型	细胞培养基上清（细胞系，原代细胞，3D 培养细胞）
检测步骤	一步法，均质检测
操作时间	0.5-1h
灵敏度	2-5ul 培养基上清
性能优异	Z' 值及信噪比高

监测 3D 培养细胞的细胞毒性



上图：LDH-Glo™ 细胞毒性试剂盒非常适合检测从少量膜破损的细胞中释放的 LDH。例如检测在 HCT-116 微球上以药物诱导产生的细胞毒性。通过在同一个孔中重复取样检测时间依赖的细胞毒性。

产品列表

产品	规格 (96 孔板)	目录号
LDH-Glo™ Cytotoxicity Assay	200 assays	J2380
	1,000 assays	J2381

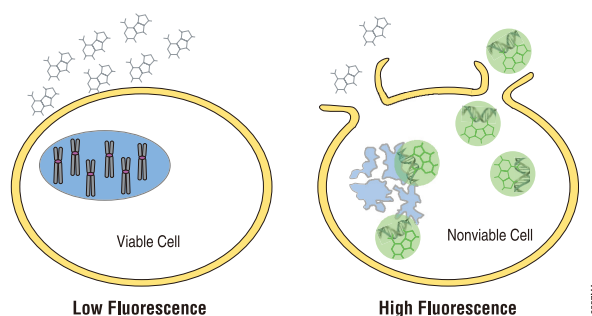
3D 细胞毒性检测 - 细胞膜完整性实时监测法

CellTox™ Green Cytotoxicity Assay

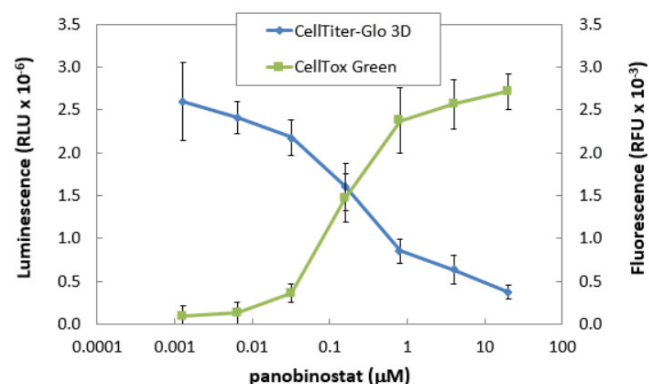
CellTox™ Green Dye 是专利荧光染料，对细胞无毒性作用，当细胞膜完整性受损时，可与双链 DNA 结合，荧光信号大幅提升，处理细胞 **72** 小时后，荧光信号仍保持稳定，可监测长达 72h 的药物处理期间的细胞毒性作用，或终点法检测长时间处理后的细胞毒性作用。

性能参数

检测类型	荧光 (485nm 激发光 /520nm 发射光)
检测标志物	细胞膜完整性
应用	细胞毒性
样品类型	细胞系，原代细胞 (悬浮或贴壁)
检测步骤	实时检测长达 72 小时或终点法
灵敏度	50 个死细胞 (96 孔板)



不同尺寸微组织的细胞活力与发光信号相关



细胞制备: HepG2 细胞按照操作指导加入 CellTox™ Green Dye 染料至细胞中，加入 200μl 细胞悬液至培养板中，培养板为黑色底部透明培养板。于 37℃ /5% CO₂ 条件下培养 4h 后，开始读取数据。

药物处理: 以 100% DMSO 配制 10mM 的 Nocodazole, Staurosporine 和 20mM Terfenadine 的母液。10 倍梯度稀释化合物加入细胞中，水平震荡 2min 后，放入预热，预平衡 CO₂ 浓度的读板仪中读板，每小时读取一次，读 72h。

产品列表

产品	规格 (96 孔板)	目录号
CellTox™ Green Cytotoxicity Assay	100 assays	G8741
	500 assays	G8742
	1,000 assays	G8743

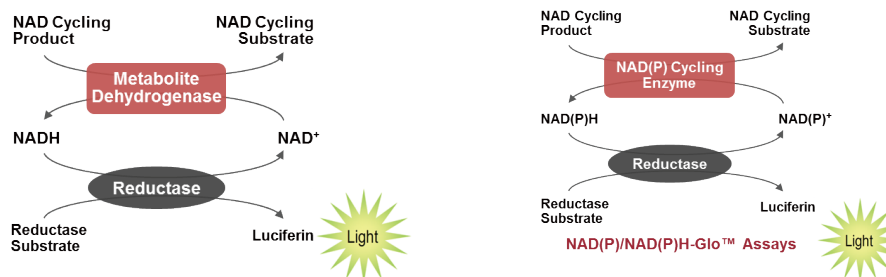
3D 培养物分析工具应用 - 细胞代谢改变

	ADME	二核苷酸（辅酶）检测	代谢物检测	氧化应激检测			脂代谢
检测试剂	P450-Glo® Assay Systems	NAD/NADH-Glo™ Assays NADP/NADPH-Glo™ Assay	Glucose-Glo™ Assay Lactate-Glo™ Assay Glutamate-Glo™ Assay Glutamine/ Glutamate-Glo™ Assay	ROS-Glo™ H ₂ O ₂ Assay	GSH-Glo™ Assay	GSH/GSSG-Glo™ Assay	Glycerol-Glo™ Assay Triglyceride-Glo™ Assay Cholesterol/Cholesterol Ester-Glo™ Assay
性能参数							
检测类型	高灵敏度发光法	高灵敏度发光法	高灵敏度发光法	高灵敏度发光法	高灵敏度发光法	高灵敏度发光法	高灵敏度发光法
检测目标	P450 酶	NAD(P)/NAD(P)H	葡萄糖，乳酸，谷氨酰胺，谷氨酸	过氧化氢	谷胱甘肽	谷胱甘肽	甘油，甘油三酯，胆固醇 / 胆固醇酯
检测原理	使用可以穿透细胞的不同前体荧光素底物。底物在细胞中被特异的 P450 酶转化后释放到上清，通过荧光素酶反应检测上清中荧光素的含量。反应产生的发光信号与对应的 P450 酶活性成正比。	将 NAD(P) 循环酶用于将 NAD(P)+ 转换为 NAD(P)H。在 NAD(P)H 存在时，还原酶将还原底物还原成荧光素，并将萤火虫荧光素酶反应偶联，最终检测的发光信号与样品中存在的代谢物的量成正比。	代谢物特异的脱氢酶催化代谢物的氧化，同时伴随着 NAD+ 还原为 NADH。在 NADH 存在下，还原酶将荧光素前体 - 还原底物还原成荧光素，并与萤火虫荧光素酶反应偶联，最终检测的发光信号与样品中存在的代谢物的量成正比。	荧光素衍生物底物与样品中的 H ₂ O ₂ 反应生成荧光素前体，进而转换为荧光素。再与其他组分产生光信号。	GSH 探针在谷胱甘肽 S- 转移酶的催化作用下转变为荧光素，再与其他组分产生光信号。	GSH+GSSG 都转变为还原型谷胱甘肽 GSH。在另一个反应中，先用一种试剂阻断所有的 GSH，同时保持 GSSG 不变，之后将 GSSG 还原为 GSH，并用发光反应来定量测定氧化型谷胱甘肽 GSSG 的含量。	利用酶联法，将脂代谢物反应生成 NADH，在 NADH 存在的情况下，还原酶将 proLuciferin 还原成萤光素，使用萤光素酶反应进行检测。
检测仪器	具有发光检测功能的发光检测仪或多功能检测仪，推荐使用 Promega 的 GloMax® 系列读板仪。						

二核苷酸检测

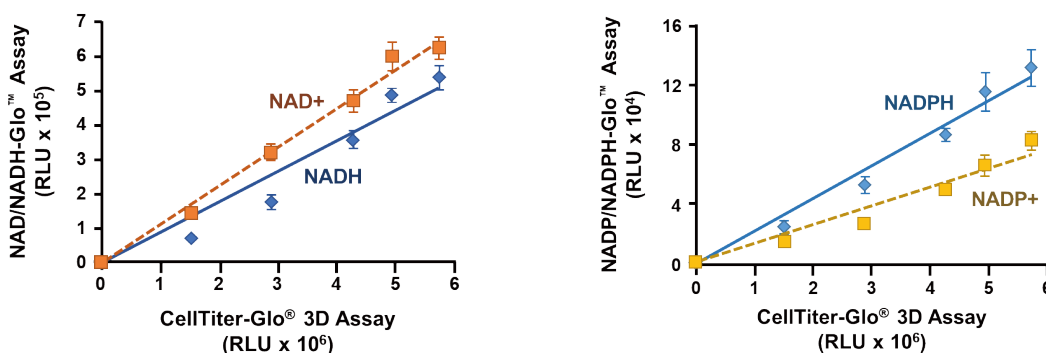
NAD/NADH-Glo™ Assay & NADP/NADPH-Glo™ Assay

NAD/NADH-Glo™ Assay 和 NADP/NADPH-Glo™ Assay 都是均质生物发光法检测试剂盒，前者能够检测总的氧化型和还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (NAD⁺ 和 NADH)，并确定 NAD⁺ 和 NADH 在生物样品或特定酶学反应中的比值。后者能够检测总的氧化型和还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (NADP⁺ 和 NADPH)，并确定 NADP⁺ 和 NADPH 在生物样品或特定酶学反应中的比值。



特点

- **高灵敏度**：可直接检测细胞孔中总 NAD⁺ 和 NADH 含量 (NAD/NADH-Glo™ Assay) 或总 NADP⁺ 和 NADPH 含量 (NADP/NADPH-Glo™ Assay)，对细胞数量要求更少，无需样品制备。
- **一步法、均质检测**：只需在 96- 或 384- 孔细胞培养板中加入单一检测试剂，即可直接检测。
- **线性范围宽**：可检测 10nM 至 400nM 的 NAD⁺ 和 NADH (NAD/NADH-Glo™ Assay) 或 NADP⁺ 或 NADPH (NADP/NADPH-Glo™ Assay)。试剂盒检测 100nM 的信号值高于背景值五倍以上，且最大信噪比 ≥100。
- **易于自动化**：操作方案兼容自动化和高通量检测。反应体系可调，支持 96-、384- 和 1536- 孔板检测。
- **可靠、具有良好的可重复性**：在通常实验中的 Z' 因子值 >0.7。
- **基于发光的检测**：避免了荧光检测方法中常见的试剂和待测化合物的荧光干扰。



上图：不同数量的 HCT116 细胞种在 GravityPLUS™ 96 孔板 (InSphero) 中，培养生长 4 天，去除培养基，以 PBS 洗细胞。加入微组织碳酸氢盐缓冲液加 2% DTAB 裂解细胞，振荡 30 分钟。裂解后，一半裂解物转移至白色发光检测板中进行酸处理，用来检测 NAD 或 NADP。另外一半进行碱处理用来检测 NADH 或 NADPH。中和后，以 NAD/NADH-Glo™ Assay 或 NADP/NADPH-Glo™ Assay 进行检测。平行孔用于 CellTiter-Glo™ 3D Assay 检测，其信号值与微组织直径成正比。

产品列表

产品	规格 (96 孔板)	目录号
NAD/NADH-Glo™ Assay	100 assays	G9071
	500 assays	G9072
NADP/NADPH-Glo™ Assay	100 assays	G9081
	500 assays	G9082

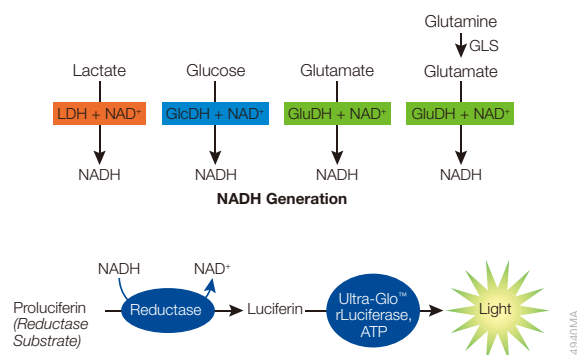
细胞能量代谢物检测

细胞对能量的吸收和利用是一个由相互作用的代谢网络调节的动态过程。对这个复杂网络的质疑将得益于快速、简单和敏感的关键代谢物检测技术。Promega 已开发出强大的生物发光检测法，可在多孔板模式检测葡萄糖、乳酸、谷氨酸和谷氨酰胺。这些检测系统用途多，能够适应更高的检测通量，并且兼容多种样品类型。

监测细胞培养基中的代谢物可以提供细胞代谢途径变化的信息。葡萄糖消耗和乳酸分泌可作为糖酵解的指标，而谷氨酰胺分泌可提供有关谷氨酰胺分解的信息。变化可以随着时间或处理（如暴露于缺氧条件下）通过检测少量培养基来进行监测。

功能

- 可检测糖酵解过程中的葡萄糖消耗和糖异生产生的葡萄糖。
- 乳酸被认为是参与癌症发展、糖尿病和其他疾病的中间代谢的一种重要调控分子。
- 谷氨酸是一种重要的代谢物，是合成核酸、核苷酸和蛋白质的前体。上调的谷氨酸产量被认为是癌细胞为支持高增长速率而对谷氨酰胺分解依赖性增强的标志物。



检测原理

代谢物特异的脱氢酶催化代谢物的氧化，同时伴随着 NAD^+ 还原为 $NADH$ 。在 $NADH$ 存在下，还原酶将萤光素前体 - 还原酶底物还原成萤光素。在萤光素酶反应中，利用萤光素酶和 ATP 检测萤光素，所发出的光信号与样品中代谢物的量成正比。

产品特点

- 快速灵活的样品制备

可测定包括培养基、细胞、组织和血浆在内的多种样品类型中的代谢物。只需极少步骤，无需离心和离心柱。简单的样品孔内处理方式更适合细胞内检测。

- 方便的分析

线性范围宽，高达 3 个数量级，可实现对多种浓度范围的样品的轻松测定。

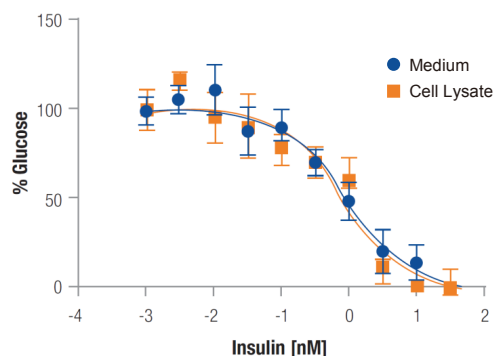
- 检测微小变化

与比色和荧光检测相比，检测窗口更宽 ($S/B_{max} > 100$)，可更好地区分代谢物水平的微小变化。

- 从每个样品中获取更多信息

可实现从同一样品中检测多种代谢物。并且可联合应用细胞活力检测进行多重检测，更便于均一化处理。

- 满足高通量和流程化工作需求



上图：iCell 肝细胞 2.0 (Cellular Dynamics, Inc.) 在 GravityTRAP™ 超低吸附 96 孔球体板 (InSphero; ~2000 个细胞 / 孔) 上生长为球状体。检测当天，将细胞在无葡萄糖的糖异生培养基中培养 1.5 小时以促进肝葡萄糖的产生。洗涤细胞，用含不同浓度胰岛素的糖异生培养基代替培养基孵育 6 小时。将一半培养基从孔中取出，并与等量葡萄糖检测试剂混合。60 分钟后，用 GloMax® Discover 多功能检测仪检测光信号。剩余的细胞和培养基 (25ul; 细胞裂解液) 通过添加 12.5ul Inactivation Solution 来检测葡萄糖，并摇动平板 5 分钟。用 12.5ul Neutralization Solution 中和样品，然后用 50ul 葡萄糖检测试剂中和样品，并在室温下培养 60 分钟后检测光信号。

产品列表

检测代谢物	产品	规格 (96 孔板)	目录号
葡萄糖	Glucose-Glo™ Assay	100 assays	J6021
		1,000 assays	J6022
乳酸	Lactate-Glo™ Assay	100 assays	J5021
		1,000 assays	J5022
谷氨酸	Glutamate-Glo™ Assay	100 assays	J7021
		1,000 assays	J7022
谷氨酰胺	Glutamine/ Glutamate-Glo™ Assay	100 assays	J8021
		1,000 assays	J8022

3D 细胞 ROS 水平检测

ROS-Glo™ H₂O₂ Assay

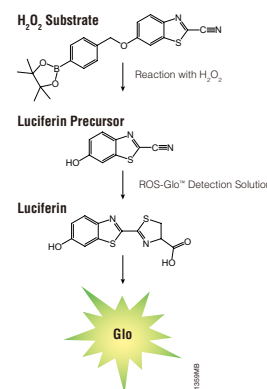
ROS-Glo™ H₂O₂ Assay 是一种均质、快速、灵敏的生物发光检测试剂盒，用于检测特定酶学反应或细胞培养物中活性氧簇 (reactive oxygen species, ROS) 之一的过氧化氢 (H₂O₂) 水平，过氧化氢是各种 ROS 中最稳定的种类。

反应原理

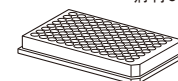
萤光素衍生物底物与样品共孵育，可直接与 H₂O₂ 反应生成萤光素前体。加入 ROS-Glo™ Detection Solution 后，萤光素前体转换为萤光素，经溶液中的 Ultra-Glo™ 重组萤光素酶催化产生发光信号，光信号强度与样品中的 H₂O₂ 水平成正比。

特点

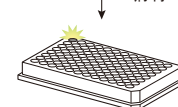
- **细胞学检测：**兼容多种细胞培养基（有 / 无血清均可），无需提前去除培养基。
- **简单、快速：**均质检测，步骤简单，仅需两步试剂加入操作。
- **非 -HRP- 检测：**ROS-Glo™ H₂O₂ 底物直接与过氧化氢反应，省去辣根过氧化物酶 (HRP) 作为偶联酶的反应步骤，消除了因 HRP 抑制引起的假阳性结果。
- **兼容自动化检测模式：**可轻松从 96- 孔板格式升级至 384- 孔板模式。
- **灵活：**可在细胞及酶学反应两种模式下筛选化合物。
- **兼容多重分析：**可通过联合使用实时细胞毒性分析 (CellTox™ Green Cytotoxicity Assay) 或细胞活力检测方法，在同一细胞孔中获得更多细胞健康数据，节约细胞培养费用与时间。



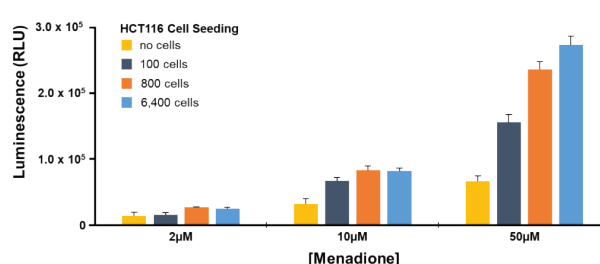
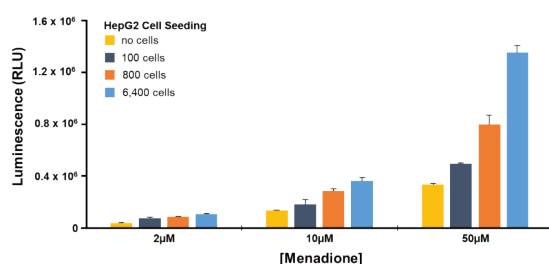
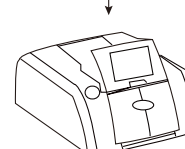
加入 H₂O₂ 底物溶液，
孵育 6 个小时。



加入 ROS-Glo™ 检测试剂，
孵育 20 分钟。



读取生物发光信号。



上图: HepG2 和 HCT116 细胞分别以 100, 800 和 6400 细胞 / 孔接种于不同的超低吸附 (ULA) 培养板中，在 37°C、5%CO₂ 条件下培养 4 天。然后将 25 μl MEM (HepG2) 或 McCoy' s 培养基 (HCT116) 中的微组织转移到白壁检测板中，并用 MEM (HepG2) 或 Hank' s 平衡盐溶液 (HCT116) 含有终浓度为 2、10 或 50 μM 的甲萘醌、25 μM 的 H₂O₂ 底物和 0.5 mM 的丙酮酸盐进行处理。检测前，微组织在在 37°C、5%CO₂ 条件下培养 2 小时，然后在 H₂O₂ 存在条件下加入 ROS-Glo™ Detection Reagent(n=3) 检测。发光信号用 GloMax® Discover System 检测。

产品列表

产品	规格 (96 孔板)	目录号
ROS-Glo™ H ₂ O ₂ Assay	100 assays	G8820
	500 assays	G8821

3D 细胞谷胱甘肽水平检测

GSH-Glo™ Glutathione Assay

GSH 水平的改变对细胞毒性反应的评价非常重要，并且是氧化应激的重要指标，可能引起细胞凋亡或细胞死亡。Promega 试剂盒提供了简单、迅速的微孔板检测方案，直接检测微孔板培养细胞中总谷胱甘肽（GSH+GSSG）及氧化型谷胱甘肽（GSSG）水平、GSH 或 GSH/GSSG 比值，检测获得的结果既可反应细胞健康或氧化应激水平，也可用于药物开发筛选，发现能够影响细胞内谷胱甘肽水平的新化合物。

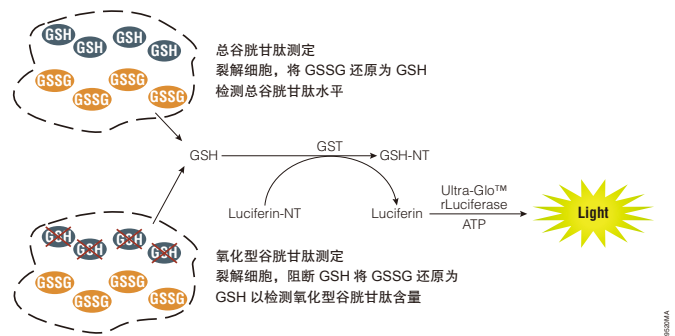
检测原理

GSH 检测：

GSH 探针（萤光素-NT）在谷胱甘肽 S-转移酶的催化作用下转变为萤光素（luciferin），并与萤火虫萤光素酶反应偶联，最终检测的稳定发光信号与样品中存在的 GSH 的量成正比。

GSH/GSSG 检测：

总谷胱甘肽与 GSSG 的检测反应是平行进行的，一个反应用于检测总谷胱甘肽的量，通过用还原试剂将细胞裂解液中的所有谷胱甘肽（GSH+GSSG）都转变为还原型谷胱甘肽 GSH 来实现。在另一个反应中，先用一种试剂阻断所有的 GSH，同时保持 GSSG 不变，之后将 GSSG 还原为 GSH，并用发光反应来定量测定氧化型谷胱甘肽 GSSG 的含量。由于这些检测都是直接在含有细胞的培养孔中进行的，从而使得 GSH 或 GSSG 的损失最小，减少了可变性。



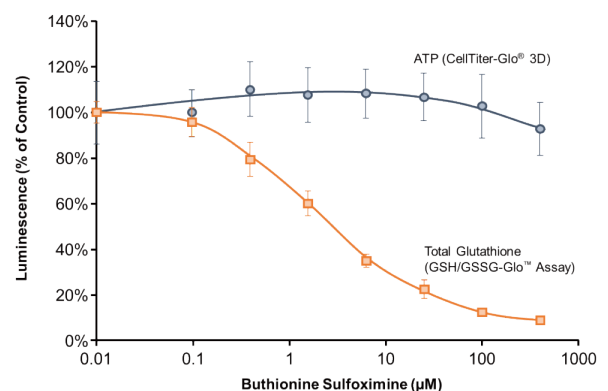
产品特点

- 更高的灵敏度
- 更快获得结果
- 兼容自动化检测
- 无荧光干扰
- 测定具有生理相关性 GSH/GSSG 的比值
- 操作简单：无需预处理样品
- 性能更强劲

产品列表

检测代谢物	产品	规格 (96 孔板)	目录号
还原型谷胱甘肽 (GSH)	GSH-Glo™ Glutathione Assay	100 assays	V6911
		500 assays	V6912
氧化性谷胱甘肽 (GSSG) 与总谷胱甘肽 (GSH+GSSG) 比率	GSH/GSSG-Glo™ Assay	100 assays	V6611
		500 assays	V6612

HCT116 球状体平行孔中检测总谷胱甘肽和细胞活力



GloMax[®] Detection Systems

The Readers Designed for Your Assays

GloMax[®] Explorer

GloMax[®] Navigator

GloMax[®] Discover



GloMax[®] Navigator

- 96 孔板读板仪
- 发光检测

GloMax[®] Explorer

- 6-384 孔板读板仪
- 发光检测
- 荧光检测
- 可见吸收光检测可选

GloMax[®] Discover

- 6-384 孔板读板仪
- 发光检测
- 带滤片的发光检测
- 荧光检测
- 可见吸收光检测
- UV 吸收光检测
- BRET/FRET 检测

更多信息请浏览 www.promega.com/glomax

www.promega.com/applications/3d-cell-culture-guide



关注 Promega 微信公众号



价格查询



中文说明书



实验工具



技术资料



市场活动



经销商信息

普洛麦格 (北京) 生物技术有限公司

Promega (Beijing) Biotech Co., Ltd

地址: 北京市东城区北三环东路 36 号环球贸易中心 B 座 907-909

电话: 010-58256268

网址: www.promega.com

技术支持电话: 800 810 8133(座机拨打), 400 810 8133(手机拨打)

技术支持邮箱: chinatechserv@promega.com

印刷时间: 2020.3