CellCounting-Lite™ 2.0
Luminescent Cell Viability Assay

DD1101

Version 9.1

Vazyme biotech co., ltd.

产品概述

CellCounting-Lite™2.0是一种基于荧光素酶系统的细胞活力检测试剂。试剂中含有高纯度的荧光素(luciferin)和热稳定的荧光素酶(luciferase)。在细胞培养物中加入本品使细胞裂解，释放出ATP，即可产生如图1所示的反应，发出稳定的“辉光”型信号。发光强度与ATP的量，即活细胞数量在一定范围内成正比，因此本品可对活细胞数目进行定量检测。

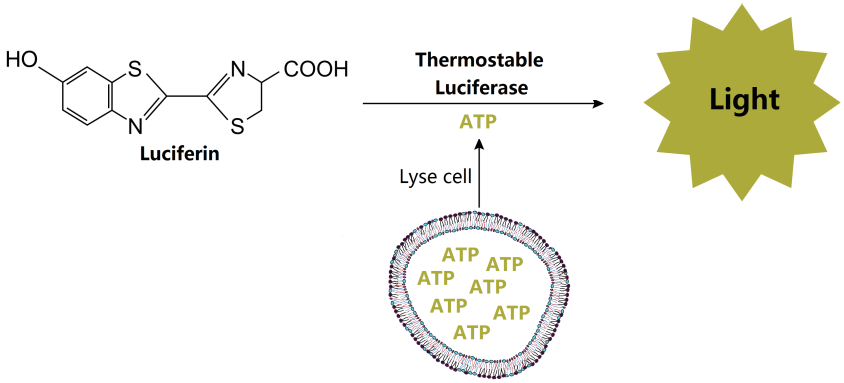

图1. CellCounting-Lite™ 2.0检测原理示意

如图2所示，本品为即用型溶液，将等体积的试剂直接加入到细胞培养物中，10 min后即可进行检测。本品产生的“辉光型”发光非常稳定，半衰期通常可达4 h，因此非常适合于高通量细胞增殖及细胞毒性检测。此外，本品含有特殊的稳定成分，可在室温稳定放置7天，2 - 8℃稳定放置60天，避免了分装或反复冻融，提高了操作的便捷性。

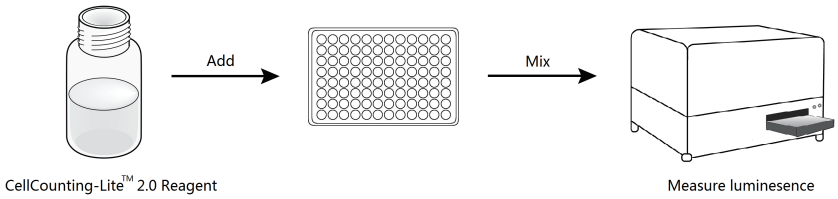

图2. CellCounting-Lite™ 2.0操作流程示意

产品规格

货　号	DD1101-01	DD1101-02	DD1101-03
CellCounting-Lite™ 2.0	10 ml	100 ml	400 ml

保存条件

长期保存：-30 ~ -15℃，可在-20 ~ 0℃运输。

融化后的CellCounting-Lite™ 2.0可在室温保存7天或在2 - 8℃保存60天(> 85%活性)。

本品反复冻融5个循环仍可保持稳定，未使用完的试剂若长期不用建议置于-20℃保存。

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。

操作流程

试剂准备

1.**融化**：将本品放置于2 - 8˚C或室温条件下融化。也可将本品放置于22˚C水浴融化，但**需要注意水温不可超过25℃**。

2.**平衡至室温**：若本品于非室温条件下融化，使用前可将其置于22˚C水浴一段时间以平衡至室温。一般针对10 ml包装需要约10 min；100 ml包装需要约30 min；400 ml包装需要约100 min。

3.使用前**轻柔**颠倒5次使溶液混合均匀。

检测步骤

1.于培养箱中取出待测细胞培养板，室温放置30 min，以使培养板温度平衡至室温。

2.加入与待测细胞培养物**等体积并平衡至室温**的CellCounting-Lite™ 2.0。例如，使用96孔培养板时，吸取100 µl CellCounting-Lite™ 2.0加入100 µl待测细胞培养物中。

3.振荡混匀2 - 5 min使细胞充分裂解；室温放置10 min以稳定发光信号，即可进行检测。

注意事项

1.**温度**：发光的强度以及衰减速率取决于荧光素酶的反应速率。温度对酶反应速率有直接影响，因此在加样前，需要将本品与细胞培养物均平衡至室温，以保持检测结果的一致性。注意在批量操作时，堆叠放置的多孔板比单层放置的多孔板需要更多的时间平衡至室温，未充分平衡可能会引起多孔板温度不均，致使多孔板中心和边缘孔间的梯度效应。

2.**化学因素**：不同培养基的化学成分会有差异，因此使用不同类型的培养基和血清，发光的强度和衰减速率会略有不同。另外，化合物对细胞进行处理时所引入的溶剂也可能对发光有影响。可以通过设置含有溶剂的培养基对照孔排除溶剂干扰。经测试常用溶剂如DMSO、甲醇、乙醇的终浓度< 2%时，对发光信号无显著影响。

3.**多孔板**：我们推荐使用平底非透发光检测板，不同类型的多孔板测得的发光强度也会有所不同。使用黑色多孔板，可有效降低孔间影响，但光值损耗较大；使用白色多孔板，可有效减少光值损耗，但会存在一定的孔间干扰；具有透明底部的非透细胞培养板，利于直接观察细胞的生长状况，也可用于发光检测，但此类孔板会增加孔间的相互影响。建议根据实验需要对不同类型的多孔板进行选择。

4.**混匀**：只有当本品完全与待测细胞混合接触，将细胞充分裂解时才能充分反应。悬浮细胞相较于贴壁细胞更容易混合均匀，有利于细胞的裂解和ATP的释放。若待测样品为悬浮细胞，加样后可省略混匀步骤，对检测结果无显著影响；若待测样品为贴壁细胞，可通过延长振板时间或加大振板频率等操作提高混匀与裂解效率。由于多孔板的孔径和液体深度均会影响混合效率，384孔板相较于96孔板更不易混匀，使用时需注意振板参数的调整。建议通过显微观察确定细胞的裂解程度，以优化振板方案。

5.**微生物污染**：环境中的微生物污染会引入外源ATP，从而引起本底信号升高。我们建议操作时佩戴口罩和乳胶手套，并注意实验台面整洁，谨慎开盖。

附一、细胞数目与发光的线性关系

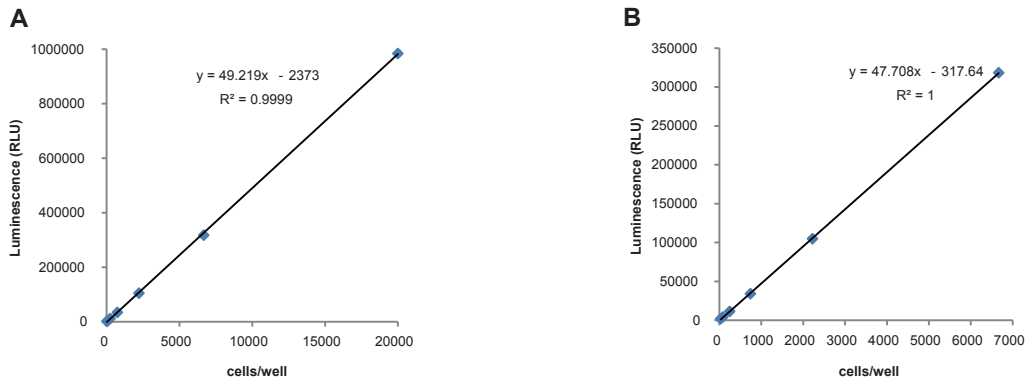

图3. 细胞数目与发光的线性关系

图3. 细胞数目与发光的线性关系。使用含有10% FBS的RPMI 1640培养基连续3倍倍比稀释Jurkat细胞，制备不同密度的细胞悬液。加入100 µl细胞悬液于96孔板中(图3A)，或加入25 µl细胞悬液于384孔板中(图3B)。加入等体积的CellCounting-Lite™ 2.0，静置10 min后检测发光。

ISO 9001: 2015