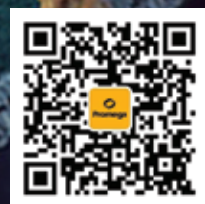
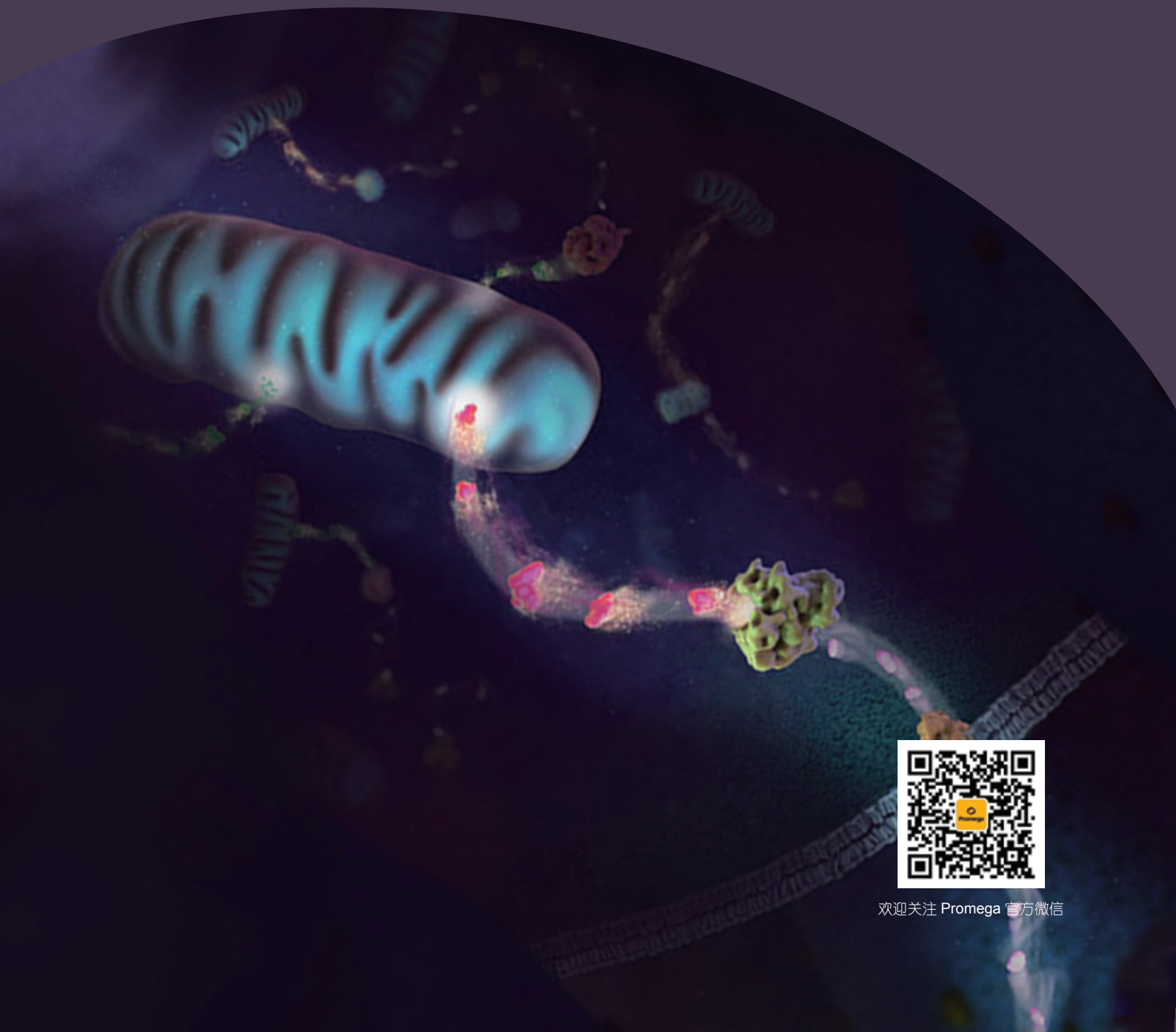


# Energy Metabolism 能量代谢解决方案



选择有效的方法来检测细胞的代谢活性，如葡萄糖摄取、氧化应激和二核苷酸检测。这些用于检测代谢变化的非放射性生物发光检测系统是研究细胞健康和疾病的强大工具。

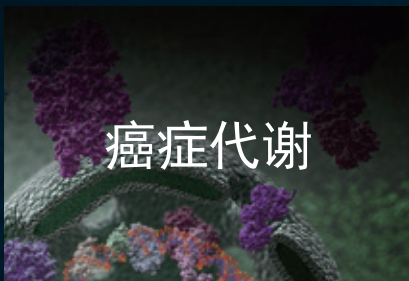
## 目 录

• 为什么选择能量代谢 .....	3
• 能量代谢检测方案总览 .....	4
• <b>脂代谢检测系统</b> .....	6
• 甘油检测 .....	8
• 甘油三酯检测 .....	9
• 胆固醇 / 胆固醇酯检测 .....	10
• <b>核苷酸和辅因子检测系统</b> .....	11
细胞活力关键指标——ATP 检测 .....	12
二核苷酸定量检测（NAD、NADH、NADP、NADPH 检测） .....	14
• <b>代谢物检测系统</b> .....	17
葡萄糖检测 .....	18
乳酸检测 .....	18
谷氨酸 / 谷氨酰胺检测 .....	18
葡萄糖摄取检测 .....	20
• <b>氧化应激分析</b> .....	21
谷胱甘肽水平检测 .....	22
线粒体功能检测 .....	24
ROS 水平检测 .....	25
萤火虫萤光素酶载体 .....	26
亚硝酸盐检测 .....	26
• <b>可定制产品</b> .....	27

# 能量代谢

- 与信号通路、表观遗传学相关
- 与健康 and 疾病相关
- 更多新的、受关注的研究领域
- 复杂的受调控的、互相连接的网络通路
- 细胞会根据内外部变化重新连接通路
- 重塑的通路可能会暴露药物作用靶点

## 为什么选择能量代谢？



- 癌症细胞需要独特的代谢
- 葡萄糖和谷氨酰胺的摄取增加
- 高水平的 ROS
- 调节氧化还原电位——GSH/GSSG, NAD(P)/NAD(P)H
- 满足高分子生物合成的合成代谢需求——NADPH



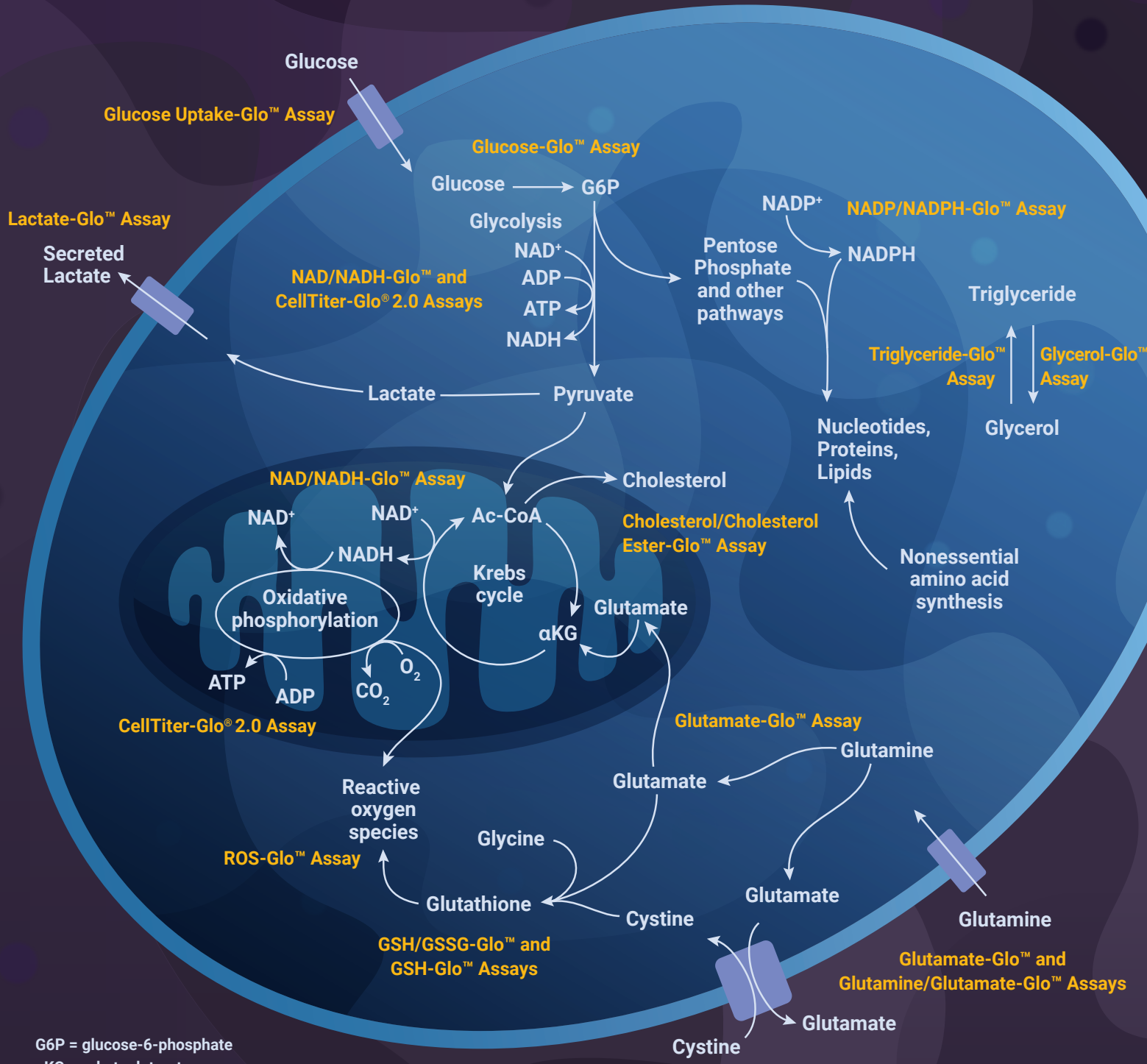
- 代谢物水平通常由于局部营养物耗尽或代谢废物的产生而改变，可以激活或抑制 T 细胞和其他免疫细胞的细胞内代谢途径。
- 监测代谢物水平是研究肿瘤中免疫细胞活化的有效方法。



- 营养摄取、储存和释放的失调
- 脂肪和肌肉细胞的葡萄糖摄取
- 肝细胞的葡萄糖释放（糖异生）
- 脂肪分解和脂肪生成



# Cellular Energy Metabolism



G6P = glucose-6-phosphate  
 αKG = α-ketoglutarate  
 Ac-CoA = acetyl coenzyme A

**A better way to explore**

Learn more at [promega.com/EnergyMetabolism](http://promega.com/EnergyMetabolism)

# 能量代谢检测方案总览

研究领域	检测靶标	检测方法	样品类型	产品	目录号
脂代谢	甘油; 甘油三酯; 胆固醇/ 胆固醇酯	发光	培养基; 细胞; 血清; 血浆; 组织裂解物	Glycerol-Glo™ Assay	J3150 J3151
				Triglyceride-Glo™ Assay	J3160 J3161
				Cholesterol/Cholesterol Ester-Glo™ Assay	J3190 J3191
糖酵解	葡萄糖; 乳酸	发光	培养的细胞	Glucose Uptake-Glo™ Assay	J1341 J1342 J1343
			血清, 血浆, 组织裂解物	Glucose-Glo™ Assay	J6021 J6022
			血清, 血浆, 组织裂解物	Lactate-Glo™ Assay	J5021 J5022
谷氨酰胺分解	谷氨酰胺; 谷氨酸	发光	血清, 血浆, 组织裂解物	Glutamine/ Glutamate-Glo™ Assay	J8021 J8022
				Glutamate-Glo™ Assay	J7021 J7022
氧化应激	过氧化氢; 谷胱甘肽	发光	培养的细胞; 培养基; 纯化后的酶	ROS-Glo™ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Assay	G8820 G8821
			培养的细胞; 组织提取物; 全血; 红细胞裂解液	GSH-Glo™ Glutathione Assay	V6911 V6912
			培养的细胞	GSH/GSSG-Glo™ Assay	V6611 V6612
辅酶	NADP, NADPH, NADH and/or NADPH	发光	纯化后的酶	NAD(P)H-Glo™ Detection System	G9061 G9062
			培养的细胞; 纯化后的酶	NAD/NADH-Glo™ Assay	G9071 G9072
			培养的细胞; 纯化后的酶	NADP/NADPH-Glo™ Assay	G9081 G9082
线粒体功能	膜完整性; ATP 产生	荧光 发光	培养的细胞	Mitochondrial ToxGlo™ Assay	G8000 G8001

# 脂质代谢

## Lipid Metabolism

Promega 脂质代谢检测提供灵敏、简单的方法来检测和定量甘油、甘油三酯、胆固醇和胆固醇酯。这些分析可用于定量脂肪分解和脂肪生成等生物过程。脂质代谢检测是基于 Promega 代谢物检测所特有的生物发光技术。

脂质代谢测定适用于多种生物样品，包括单层培养或 3D 培养的细胞、细胞培养基、组织、血浆或血清。用于脂质代谢检测分析的细胞类型包括单层培养或 3D 培养的肝细胞和脂肪细胞。检测方法无需有机萃取，简化了样品制备步骤。具有很高的线性范围，减少了所需样品稀释的次数，提高了区分脂质代谢产物水平微小变化的定量能力。



# Promega 生物发光脂代谢检测系统

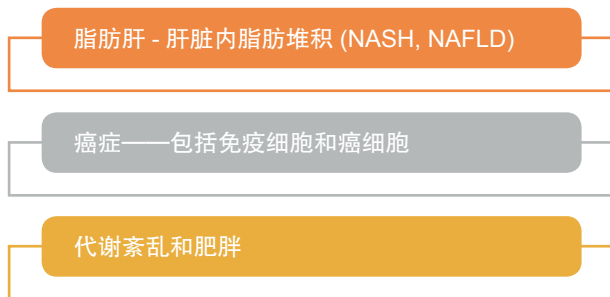
## 脂质是什么？

- 一类低水溶性（疏水的）有机分子的统称
- 脂质包括油脂（甘油三酯）和类脂（磷脂、固醇类）

## 脂质的作用是什么？

- 能源、存储
- 组成生物膜（如磷脂、鞘脂和胆固醇）
- 传递信息

## 脂质代谢的改变会影响什么？

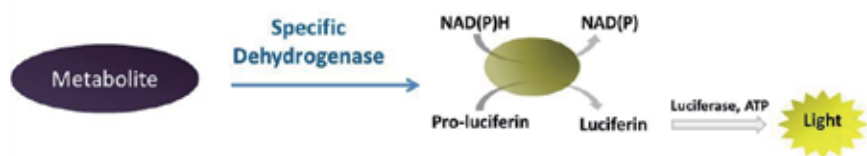


## 脂质代谢研究意义？

- 在健康的或疾病状况下的许多组织类型中，脂质的代谢都是关键。
- 胆固醇在细胞膜中起着重要的结构作用；胆固醇升高与疾病状态相关。
- 胆固醇酯：血浆中优先运输的脂质形式。

## 产品特点

- ✓ 适用于多种生物样品，如细胞培养基、组织、血清和组织裂解物等。
- ✓ 发光法检测，灵敏度高，线性范围大：检测线性范围高达 80μM。
- ✓ 无需有机萃取、高温或离心。
- ✓ 操作简单，直接在板孔中进行。



检测代谢物	产品
甘油检测	Glycerol-Glo™ Assay
甘油三酯检测	Triglyceride-Glo™ Assay
胆固醇 / 胆固醇酯检测	Cholesterol/Cholesterol Ester-Glo™ Assay

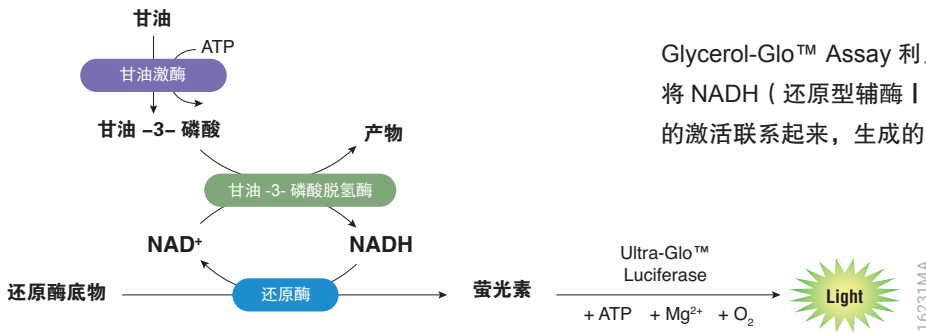


# 甘油检测

## Glycerol-Glo™ Assay

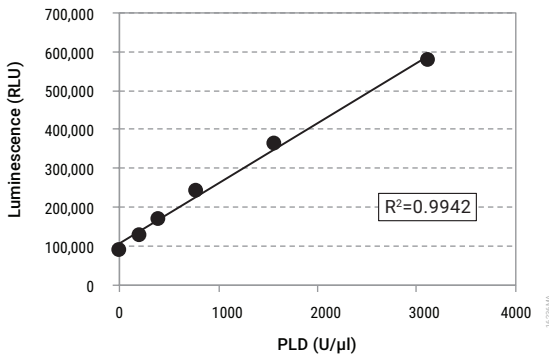
Glycerol-Glo™ Assay 是一种生物发光检测方法，可对多种生物样品进行快速、灵敏的甘油检测，包括单层培养或 3D 培养的细胞、细胞培养基、组织或血清。甘油主要作为甘油三酯释放的脂解产物被测量。甘油还可作为底物或产物，通过 Glycerol-Glo™ Assay 对各种其他酶促或代谢过程进行研究。无论细胞内或细胞外的任意甘油浓度的变化，都可以使用 Glycerol-Glo™ Assay 进行检测。

### 检测原理



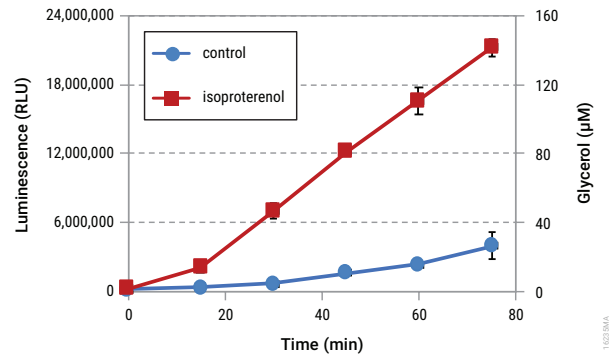
Glycerol-Glo™ Assay 利用酶偶联法对甘油进行测量，该方法将 NADH (还原型辅酶 I) 的生成与 pro-luciferin (还原酶底物) 的激活联系起来，生成的 luciferin 可被萤光素酶催化发光。

磷脂酶 D 活性测量



上图：一定浓度范围的磷脂酶 D (PLD) 在 PBS 中与 40μM 的磷脂酰甘油以 1:1 混合，并在室温下孵育 1 小时。然后将该溶液与甘油检测试剂以 1:1 混合，并在 1 小时后记录发光。

脂肪细胞释放的甘油



上图：随着时间的推移甘油从脂肪细胞中释放出来。分化后的 3T3L1-MBX 成纤维细胞用 10 μM 异丙肾上腺素处理从而刺激甘油释放，不用异丙肾上腺素处理作为对照。在规定的时点取出小份培养基，稀释两倍后用 Glycerol-Glo™ Assay 测定。

检测靶标	产品	规格	目录号
甘油	Glycerol-Glo™ Assay	5ml	J3150
		50ml	J3151



# 甘油三酯检测

## Triglyceride-Glo™ Assay

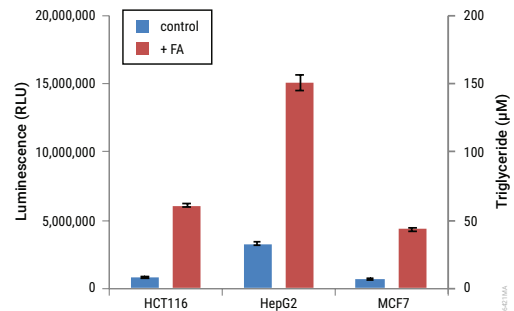
Triglyceride-Glo™ Assay 是一种生物发光检测方法，可对多种生物样品进行快速、灵敏的甘油三酯检测，如细胞培养基、血清和组织匀浆。

该方法适用于测量正常和病理条件下甘油三酯的堆积和清除情况，例如脂肪细胞、肝脏样品或细胞培养肝模型，其中甘油三酯堆积过多会导致脂肪变性，进一步发展为非酒精性脂肪性肝病 (NAFLD)，并最终发展为非酒精性脂肪性肝炎 (NASH)。

### ■ 检测原理

脂肪酶将甘油三酯 (TAG) 转化为甘油。甘油激酶和甘油-3-磷酸脱氢酶用于产生 NADH。在 NADH 存在的情况下，还原酶将 pro-luciferin (还原酶底物) 还原成萤光素，使用 Ultra-Glo™ Luciferase 和 ATP 通过萤光素酶反应对萤光素进行检测，产生的光信号强度与样品中的甘油浓度呈正比。

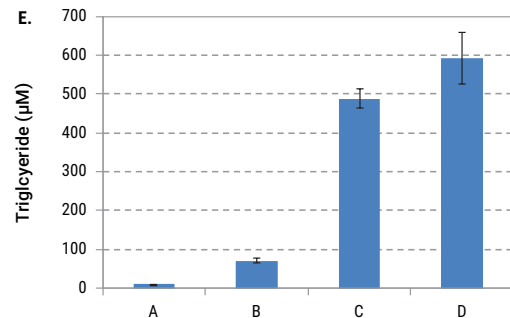
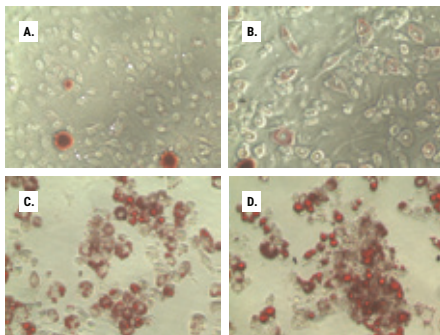
癌细胞系中甘油三酯浓度检测



上图：将三种细胞系 (HCT116: 结肠癌细胞系; HepG2: 肝癌细胞系; MCF7: 乳腺癌细胞系) 中的一万个细胞，在不含 (对照) 或含有 (+ FA) 0.3mM 亚油酸 & 油酸与 BSA (Sigma Cat.# L9655) 结合过夜培养。用 Triglyceride-Glo™ Assay 方法检测。

### 脂肪细胞分化：甘油三酯定量染色对照

对中性脂质进行染色是监测甘油三酯变化的常用方法，油红 O 染色提供了脂质堆积的定性图像，而 Triglyceride-Glo™ 提供了定量检测。



上图：为了证明 Triglyceride-Glo™ Assay 提供了相似但更多的定量数据，我方对脂肪细胞分化的各个阶段进行了监测 (右图)。在一组孔板中，细胞用油红 O (Oil Red O) 染色；而另一套孔板使用了 Triglyceride-Glo™ Assay。两种检测均显示纤维原细胞中的甘油三酯含量最低 (右图，A 组)，而成熟脂肪细胞中则有大量的甘油三酯 (右图，D 组)。

检测靶标	产品	规格	目录号
甘油三酯	Triglyceride-Glo™ Assay	5ml	J3160
		50ml	J3161

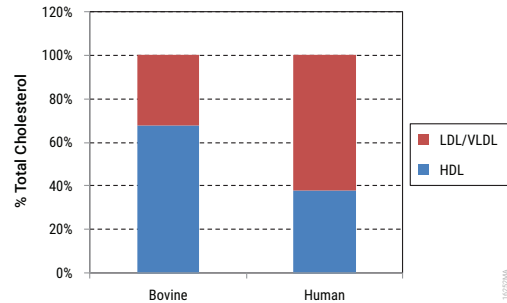
# 胆固醇 / 胆固醇酯检测

## Cholesterol/Cholesterol Ester-Glo™ Assay

Cholesterol/Cholesterol Ester-Glo™ Assay 是一种生物发光检测方法，可对多种生物样品进行快速、灵敏的胆固醇 / 胆固醇酯检测，包括脂蛋白组分、细胞培养基、血清和组织匀浆。胆固醇过多会导致炎症、动脉粥样硬化、代谢性疾病和癌症。实际上，脂蛋白的胆固醇含量通常被用作心血管的风险指标。

检测游离胆固醇，需从胆固醇检测试剂中除去胆固醇酯酶。在无酯酶和有酯酶单独孔板的检测孔中同时进行检测，以根据游离胆固醇和总胆固醇之间的差量计算胆固醇酯的含量。

脂蛋白中的胆固醇和胆固醇酯检测



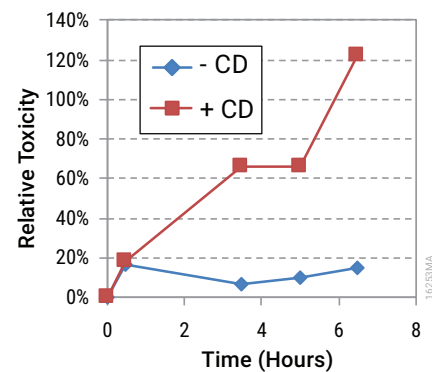
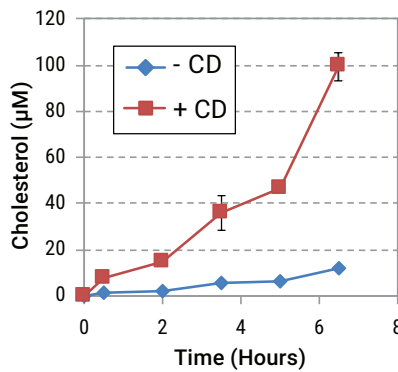
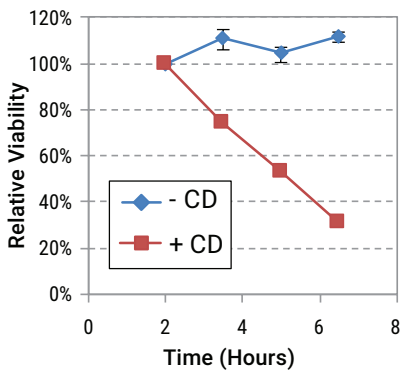
上图：血清中高密度脂蛋白、低密度脂蛋白和极低密度脂蛋白（VLDL）的相对量。上图是使用 PEG8000 的示例。

结合多重检测

胆固醇含量检测：Cholesterol/Cholesterol Ester-Glo™ Assay

细胞活力检测：RealTime-Glo™ MT Cell Viability Reagent

乳酸脱氢酶（LDH）的释放来检测细胞毒性：LDH-Glo™ Cytotoxicity Assay



上图：一些研究人员会选择在 β-环糊精萃取实验开始之前，控制其生物系统中的胆固醇含量。β-环糊精这些分子的疏水内核大约相当于胆固醇的大小，因此它们可以从细胞中“萃取”胆固醇。但是，胆固醇萃取过多会导致细胞死亡，因此控制萃取时 β-环糊精的含量和培育孵育时间很重要。上图所示的实验中，HCT116 结肠癌细胞在有或没有甲基-β-环糊精的情况下培养，并在一段时间后取出培养基作为样品。分别检测胆固醇含量和 LDH 释放，细胞则用 RealTime-Glo™ Assay 实时检测细胞活力的变化。

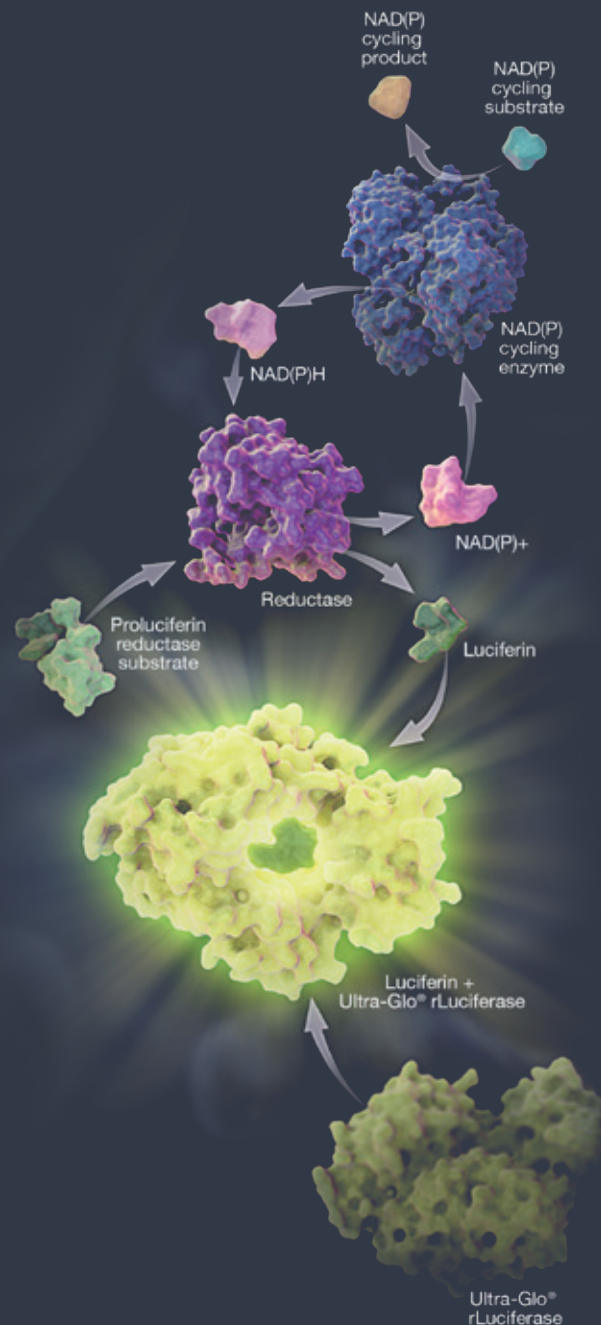
检测靶标	产品	规格	目录号
胆固醇 / 胆固醇酯	Cholesterol/Cholesterol Ester-Glo™ Assay	5ml	J3190
		50ml	J3191

# 核苷酸和辅因子检测

## Nucleotide and Co-Factor Detection Assays

$\text{NAD}^+$ ,  $\text{NADP}^+$ ,  $\text{NADH}$  和  $\text{NADPH}$  是参与细胞内关键信号通路的多种酶类的重要辅因子，这种二核苷酸的定量是确定多种酶类活性的标准方法，无论是直接或者通过偶联到其他  $\text{NADH}$  或  $\text{NADPH}$  产生的反应。而  $\text{ATP}$  是细胞健康的关键指标，与许多代谢网络相关。

Promega 提供多种系统检测和定量这些重要的分子。



# 细胞活力关键指标—ATP 检测

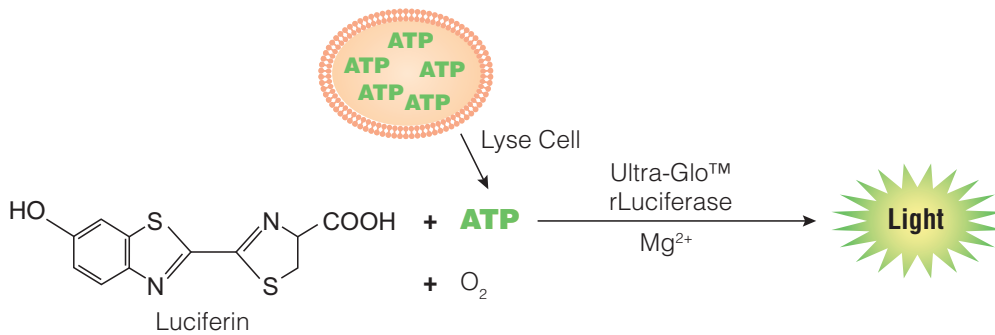
## CellTiter-Glo<sup>®</sup> 2.0 Assay

细胞活力检测及药物毒性检测的金标准——CellTiter-Glo<sup>®</sup> Assay 升级版。采用单一即用形式的试剂，具有更高的稳定性，方便保存。为多孔板而设计，是进行自动化高通量筛选 (HTS)、细胞增殖和毒性分析的理想选择。

产品	规格	目录号
CellTiter-Glo <sup>®</sup> 2.0 Assay	10ml	G9241
	100ml	G9242
	500ml	G9243

### ■ 检测原理

试剂直接裂解细胞后，细胞中的 ATP 与试剂中的 Ultra-Glo<sup>™</sup> 萤光素酶反应产生光信号，检测 ATP 含量。



### ■ 产品特点

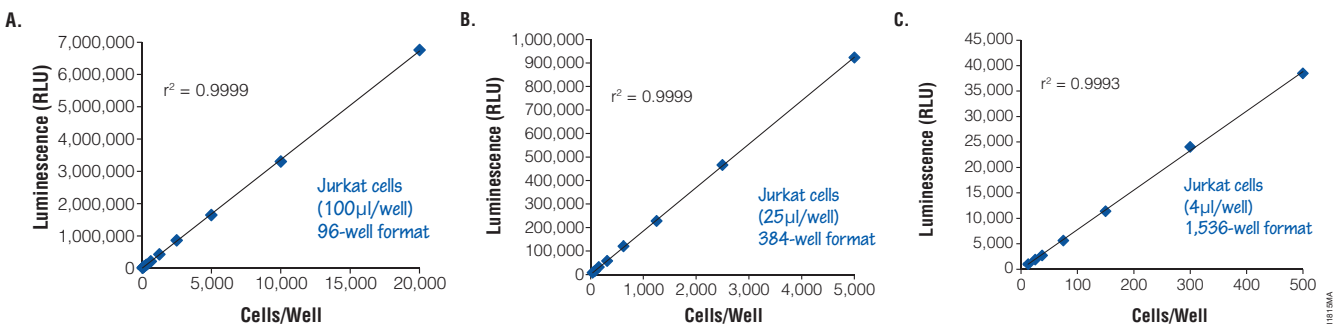
✓ 单一即用型试剂，储存方便

4°C下存储 1 个月仍保留超过 90% 的活性，室温下存储一周能保留 85% 的活性。

活性保留	CellTiter-Glo <sup>®</sup> 2.0 Assay	CellTiter-Glo <sup>®</sup> Assay
>85% 22°C	7 天	12 小时
>85% 4°C	5 个月	3.5 天

✓ 操作灵活，可进行 HTS 筛选

可用于不同规格的多孔板实验 (96 孔, 384 孔和 1536 孔板), 适应低通量到高通量的应用需求。可通过化学发光或 CCD 成像设备或其他具有读取多孔板发光能力的设备记录数据。

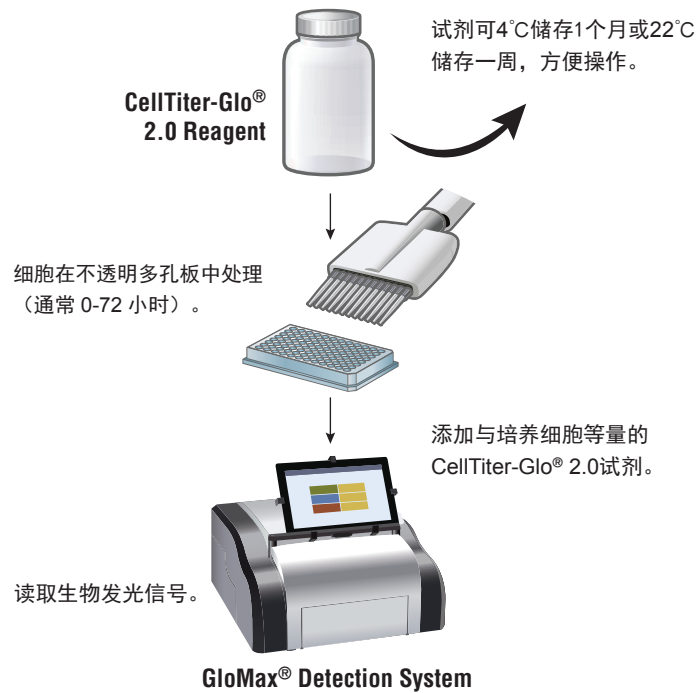
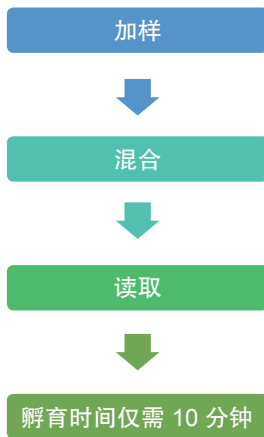




# 细胞活力关键指标—ATP 检测

## CellTiter-Glo<sup>®</sup> 2.0 Assay

### ✓ 操作简单



11543TG

### ✓ 性能强大

光信号稳定，半衰期超过 3 个小时（具体因细胞类型和培养基而异），样品可进行批量处理，适用于筛选。

培养基类型	细胞类型	发光信号 (RLU × 10 <sup>6</sup> )		信号半衰期 (小时)	
		CellTiter-Glo <sup>®</sup> 2.0 Reagent	CellTiter-Glo <sup>®</sup> Reagent	CellTiter-Glo <sup>®</sup> 2.0 Reagent	CellTiter-Glo <sup>®</sup> Reagent
Mem α	MCF7	4.06	6.40	7.30	4.81
McCoy's 5A	U2OS	5.98	9.27	7.14	5.07
F12	CHO	5.86	8.76	6.97	4.99
RPMI	HCT116	6.75	10.86	7.53	4.95
	Jurkat	12.80	21.10	7.41	5.33
	U397	13.51	20.86	7.07	5.33
DMEM	HEK293	6.21	10.07	7.27	4.83
	HeLa	5.80	9.01	7.02	4.88
	HepG2	6.52	10.34	7.27	4.83

注：1 × 10<sup>4</sup> 细胞铺于多孔板中培养 24 小时，再 1:1 加入试剂读取光信号。悬浮细胞以 10<sup>5</sup> 铺于多孔板。

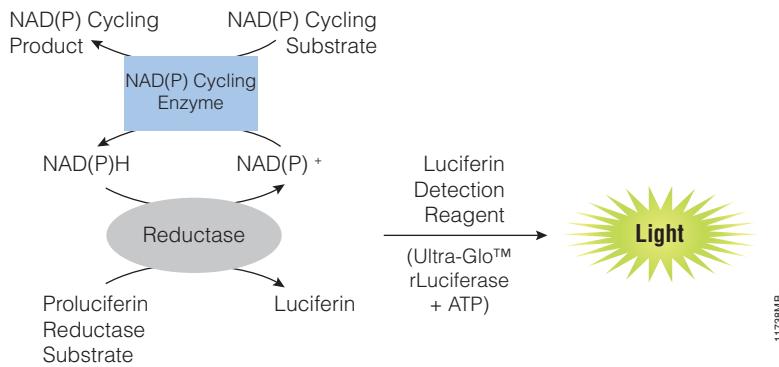
# 二核苷酸定量检测

## NAD/NADH-Glo™ and NADP/NADPH-Glo™ Assays

NAD/NADH-Glo™ Assay 和 NADP/NADPH-Glo™ Assay 是基于发光的一步法、均质检测方法。能够快速检测细胞和酶促反应中的 NAD<sup>+</sup> 和 NADH 以及 NADP<sup>+</sup> 和 NADPH 水平。该方法可用于检测多孔板中的单个核苷酸或用于低活性或低 Km 值酶的分析，也适用于高通量形式的抑制剂筛选。

### ■ 检测原理

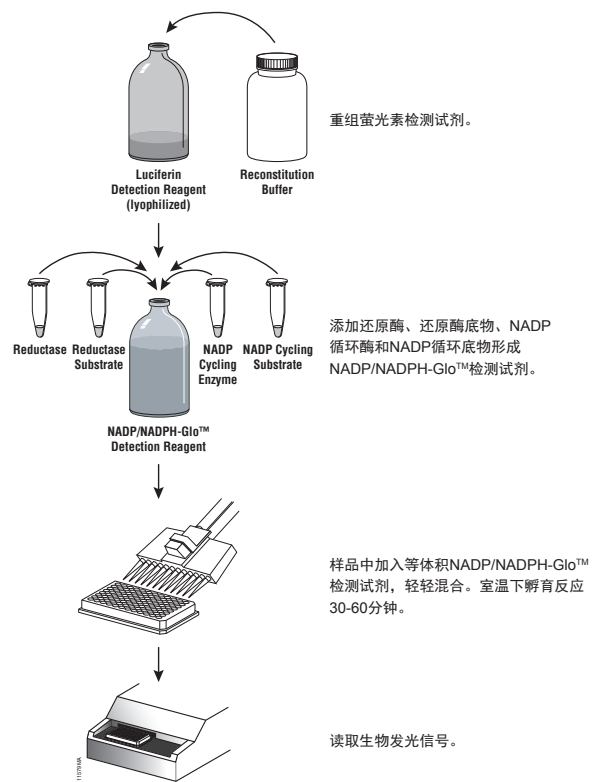
NAD(P) 循环酶用于将 NAD(P)<sup>+</sup> 转换为 NAD(P)H。在 NAD(P)H 存在时，还原酶将 pro-luciferin (还原酶底物) 还原成萤光素。萤光素通过 Ultra-Glo™ 重组萤光素酶定量，反应产生的光信号与样品中的 NAD(P)<sup>+</sup> 和 NAD(P)H 的量成正比。



### ■ 产品特点

- ✓ 灵敏度高，对细胞数量要求更少，无需样品制备可直接检测细胞孔中 NAD(P) /NAD(P)H 含量。
- ✓ 一步法、均质检测，10nM 至 400nM 的宽线性范围。
- ✓ 操作方案兼容自动化和高通量检测，支持 96、384 和 1536 孔板检测。
- ✓ 可靠、具有良好的可重复性，实验中的 Z' 因子值 >0.7。
- ✓ 基于发光法检测，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。

### ■ 操作步骤

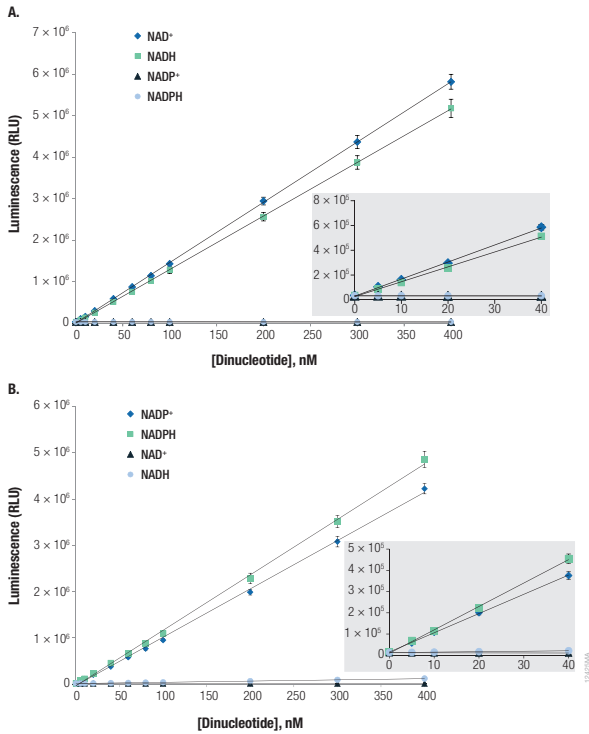


产品	规格	目录号
NAD/NADH-Glo™ Assay	10ml	G9071
	50ml	G9072
NADP/NADPH-Glo™ Assay	10ml	G9081
	50ml	G9082

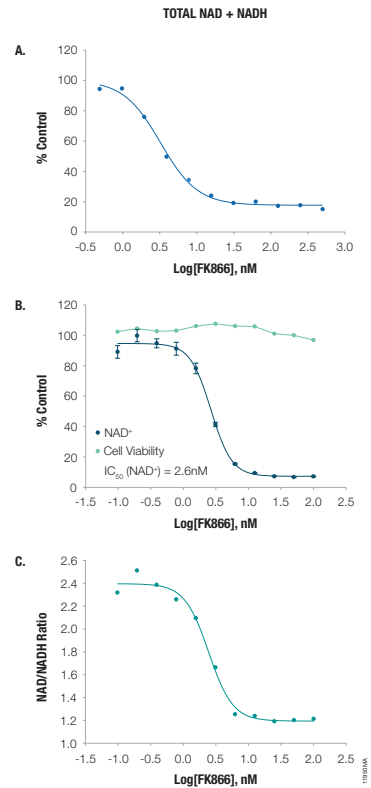
# 二核苷酸定量检测

## NAD/NADH-Glo™ and NADP/NADPH-Glo™ Assays

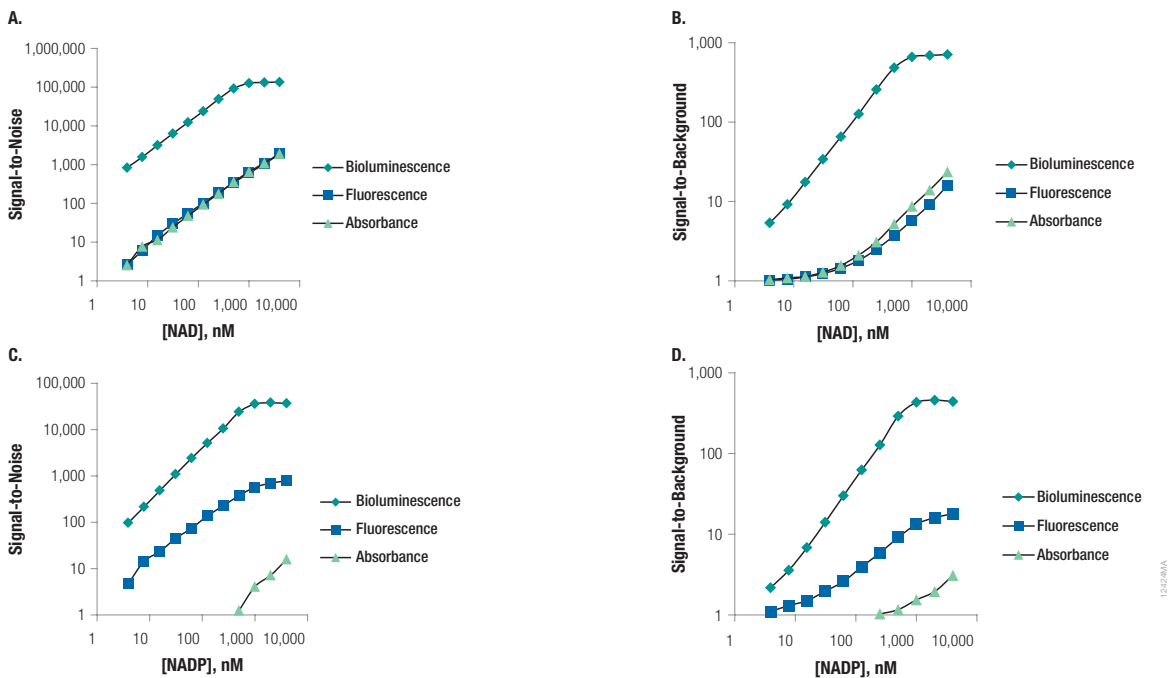
■ 对 NAD(P)<sup>+</sup> 和 NAD(P)H 检测具有选择性



■ 分别测量 NAD<sup>+</sup> 和 NADH 以及计算两者比率



■ 生物发光法优于其他检测方法



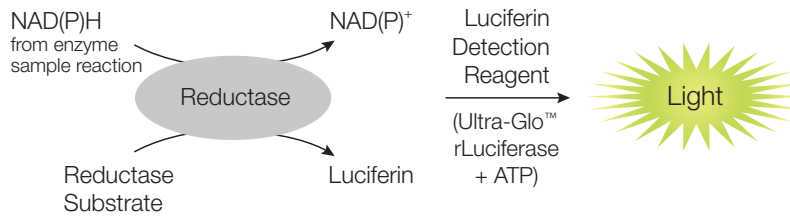
上图：生物发光是检测烟酰胺腺嘌呤二核苷酸最灵敏的方法，将该检测方法与其他检测方法进行比较。

# 二核苷酸定量检测

## NAD(P)H-Glo™ Detection System

NAD(P)H-Glo™ Detection 是基于发光的一步法、均质检测方法。能够快速检测细胞和酶促反应中的 NADH 和 NADPH 的浓度，NAD<sup>+</sup> 和 NADP<sup>+</sup> (氧化形式) 不会被该试剂盒检测到，也不会干扰定量。该检测系统具有很宽的线性范围和高信噪比，非常适合高通量测定 NAD(P)H 的产生或消耗。

### ■ 检测原理

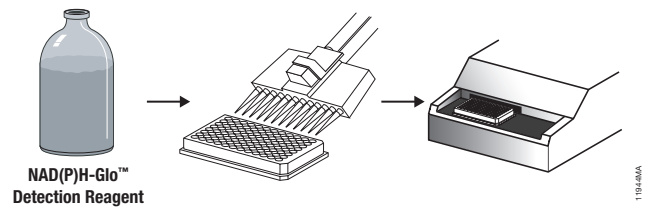


### ■ 产品特点

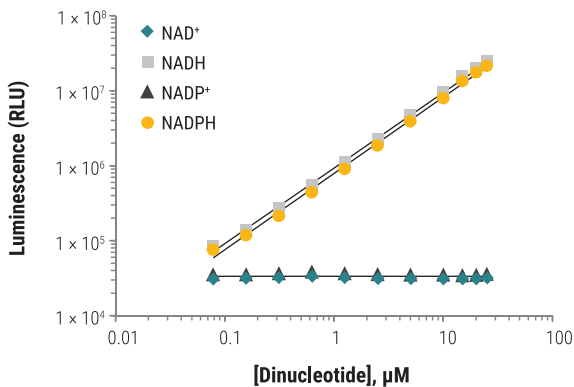
- ✓ 0.1μM 到 25μM 宽线性范围，检测极限为 ≤0.1μM NADH，高灵敏度。
- ✓ 操作方案兼容自动化和高通量检测。
- ✓ 通常实验中的 Z' 因子值 >0.7，具有良好的可重复性。
- ✓ 辉光型信号稳定，半衰期大于两个小时，可进行批量处理。
- ✓ 基于发光法检测，避免了荧光检测方法中常见的试剂和待测化合物的荧光干扰。

### ■ 操作步骤

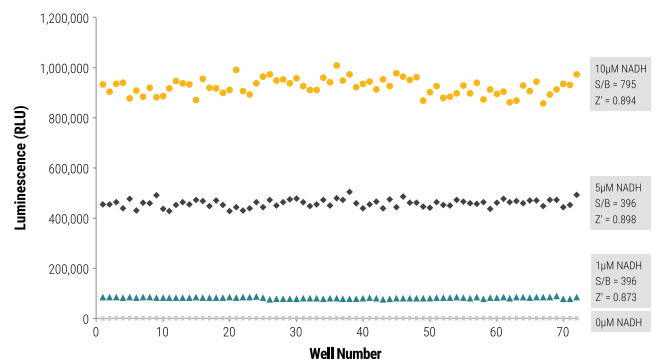
操作简便，加入 - 混合 - 检测



产品	规格	目录号
NAD(P)H-Glo™ Detection System	10ml	G9061
	50ml	G9062



上图：NAD(P)H-Glo™ Detection System 的线性范围和检测的特异性



上图：该方法在酶促反应中选择性测量 NADH 水平



# 代谢物检测系统

## Metabolite Detection Assays

细胞中的能量吸收和利用是一个动态过程，由相互作用的代谢网络调节。简单、快速且灵敏地测定关键代谢物的技术将有效促进对这个复杂网络的研究。Promega 开发的生物发光检测分析，可以快速、灵敏和有选择性地检测生物样品中的葡萄糖、乳酸、谷氨酸和谷氨酰胺。发光法有效避免了比色法和荧光法中信号干扰的问题，也无需去蛋白样品处理过程。能够以微孔板的形式可靠地检测。

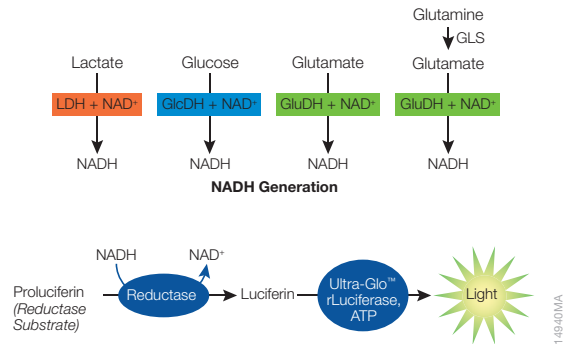
# 代谢物检测列表

检测代谢物	产品	规格	目录号
葡萄糖	Glucose-Glo™ Assay	5ml	J6021
		50ml	J6022
乳酸	Lactate-Glo™ Assay	5ml	J5021
		50ml	J5022
谷氨酸	Glutamate-Glo™ Assay	5ml	J7021
		50ml	J7022
谷氨酰胺	Glutamine/ Glutamate-Glo™ Assay	5ml	J8021
		50ml	J8022

- 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。

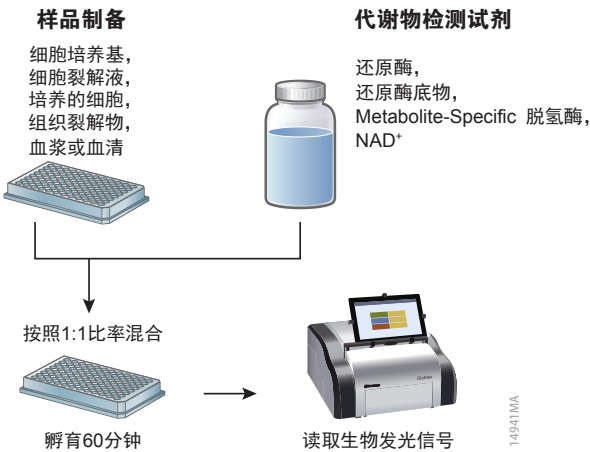
## ■ 检测原理

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。



## ■ 检测流程

- 制备好的样品 + 代谢物检测试剂
- 1:1 混合
- 孵育 60 分钟，记录发光

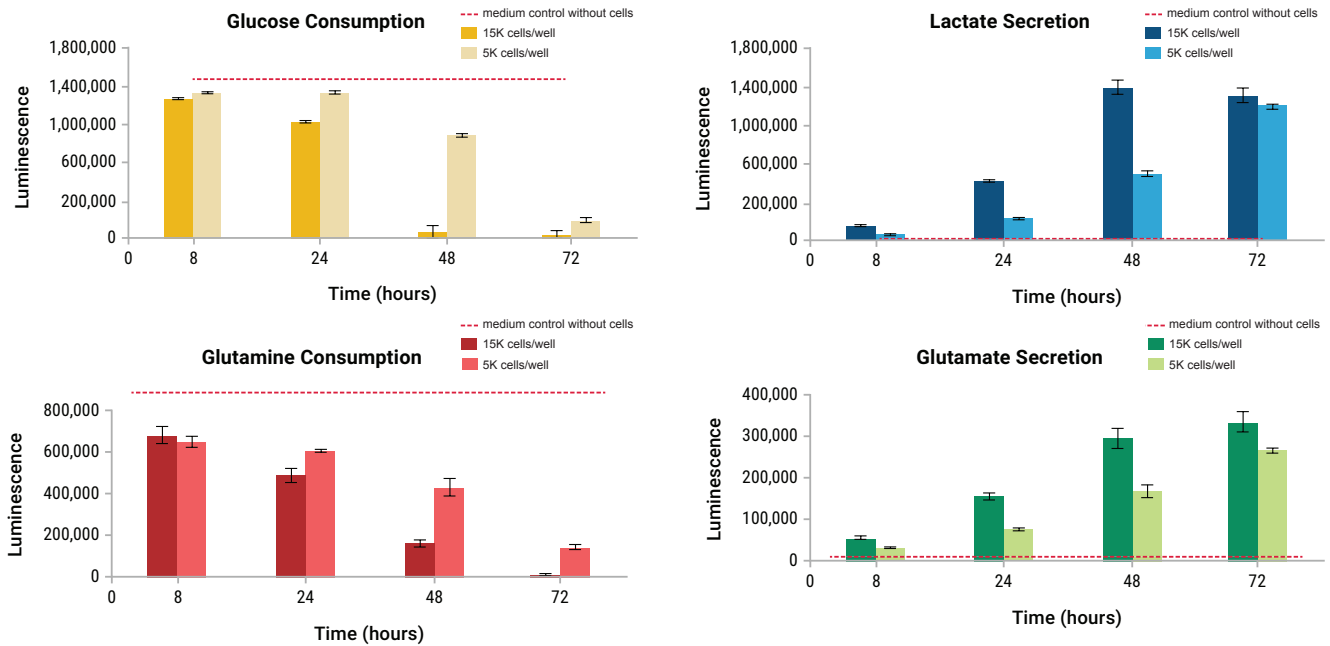


## ■ 产品特点

- ✓ **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。检测只需要极少的制备步骤，且不需要离心和离心柱。轻松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进行轻松测定。
- ✓ **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**

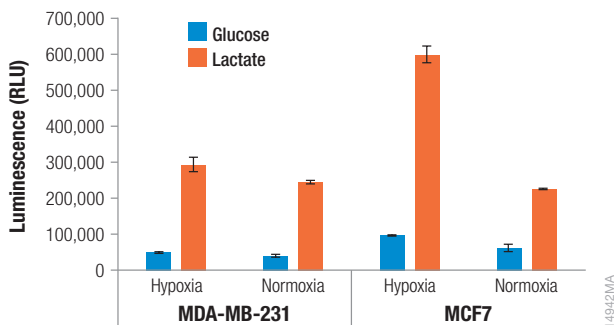
## ■ 从一个样品中检测多个代谢物

分别使用 Glucose-Glo™, Lactate-Glo™, Glutamine/Glutamate-Glo™ 和 Glutamate-Glo™ 同时检测对细胞能量状态非常重要的四种代谢物：葡萄糖、乳酸盐、谷氨酸盐和谷氨酰胺。以上代谢物检测产品可测的样品类型包括培养基、血清、血浆和组织。以下数据是从来自相同细胞培养孔的培养基样品中检测 4 种不同的代谢物而得到的，详情请参考技术手册 TM494。

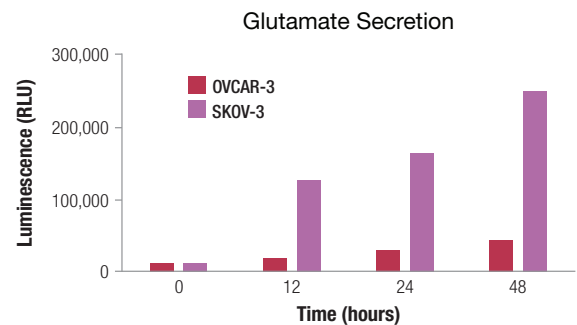
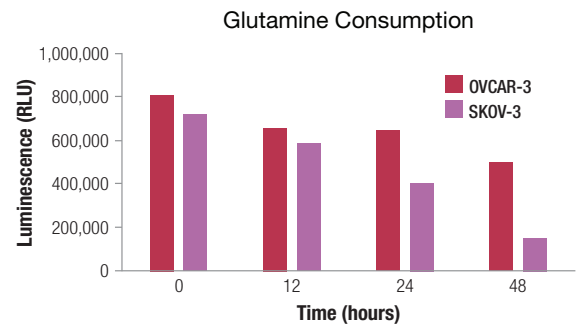


## ■ 监控培养基中的营养物消耗和代谢物分泌

监控细胞培养基中的代谢物可以为细胞代谢途径中发生的变化提供信息。葡萄糖消耗和乳酸分泌可作为糖酵解的指标，而谷氨酰胺的分泌可提供谷氨酰胺分解的信息。通过检测少量经过稀释的培养基，可监控代谢物随时间发生的变化或处理后（比如暴露于缺氧条件）的变化。



上图：缺氧诱导的代谢变化。两种不同的乳腺癌细胞系对缺氧条件（1% 氧气）的反应不同。MCF7 细胞转变为糖酵解程度更高的表型伴随乳酸分泌增加，而原本糖酵解程度高的 MDA-MB-231 细胞系则没有观察到明显变化。



上图：细胞依赖性谷氨酰胺代谢。两种有着不同的谷氨酰胺需求的卵巢癌细胞系表现出不同的谷氨酰胺消耗和谷氨酸分泌的模式。将 SKOV-3 或 OVCAR-3 细胞接种在 96 孔板中，接种密度为 10,000 个细胞 / 孔。在指定的时间点，取 2μl 培养基，稀释并测定。OVCAR-3 细胞的谷氨酸分泌 / 谷氨酰胺消耗的比例较低（~0.17 vs. ~0.42）。

# Glucose Uptake-Glo™ Assay

Glucose Uptake-Glo™ Assay 是一种非放射性的、基于培养板的、均质生物发光检测系统，用于检测哺乳动物细胞的葡萄糖摄取。

## 产品特点

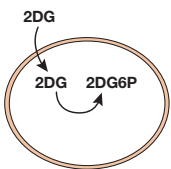
- ✓ **非放射性：**与传统放射性方法基于相同原理，但采用发光法检测。
- ✓ **步骤简单，均质检测：**加入 2DG 后，无需洗涤——所有步骤都是加入。
- ✓ **灵敏，线性范围宽：**试剂盒可以检测 0.5-30μM 2DG6P，低至 5000 个细胞，信号背景比 >3。
- ✓ **兼容自动化检测：**“加样 - 混合 - 读数”的简单操作方式可与自动化高通量工作流程兼容；反应可扩展至 96- 和 384- 孔板。
- ✓ **结果可靠，重复性好：**得到的 Z' 因子 >0.5。

产品	规格	目录号
Glucose Uptake-Glo™ Assay	5ml	J1341
	10ml	J1342
	50ml	J1343

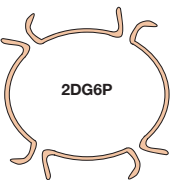
## 检测原理

试剂盒基于对 2- 脱氧葡萄糖 -6- 磷酸 (2DG6P) 的检测。

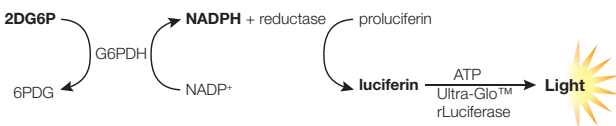
Step 1. Add 2DG to cells.



Step 2. Add Stop and Neutralization Buffers to end reactions and lyse cells.

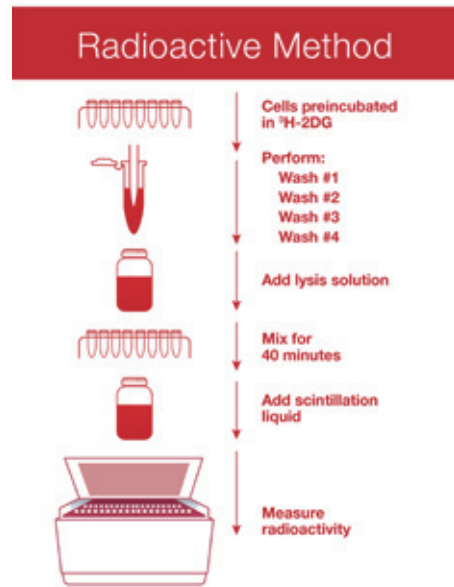
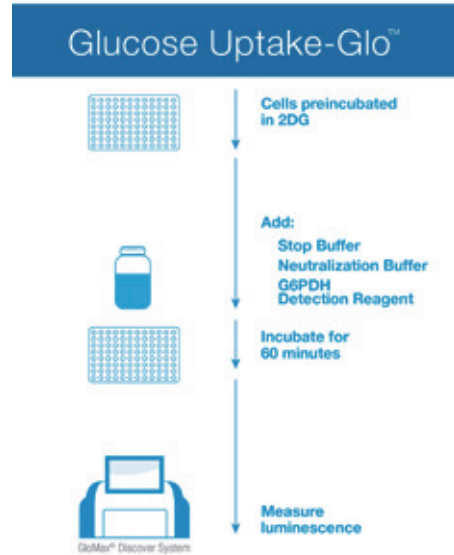


Step 3. Add 2DG6P Detection Reagent.

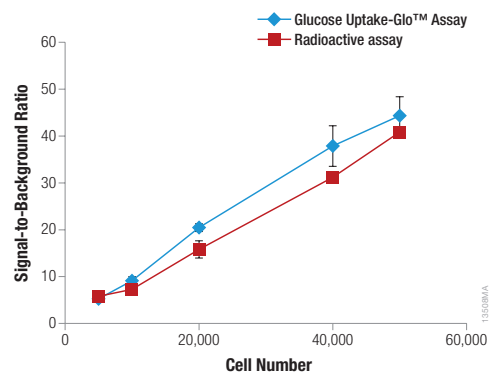


2DG = 2-deoxyglucose  
2DG6P = 2-deoxyglucose-6-phosphate  
G6PDH = glucose-6-phosphate dehydrogenase

更安全、更简单 (和传统放射性方法相比)



和传统放射性方法相比，信号背景比一致



上图：对不同数量的 HCT116 细胞，分别应用传统 2DG 放射性方法或 Glucose Uptake-Glo™ Assay 检测葡萄糖摄取。



# 氧化应激分析

## Oxidative Stress Assays

氧化应激，是活性氧的产生和细胞的抗氧化防御之间的不平衡，与人类疾病以及老化相关。我们提供检测谷胱甘肽、线粒体功能检测、ROS 变化以及检测氧化还原型谷胱甘肽比值的检测系统，这些可作为细胞健康的指标。

# 谷胱甘肽水平检测

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

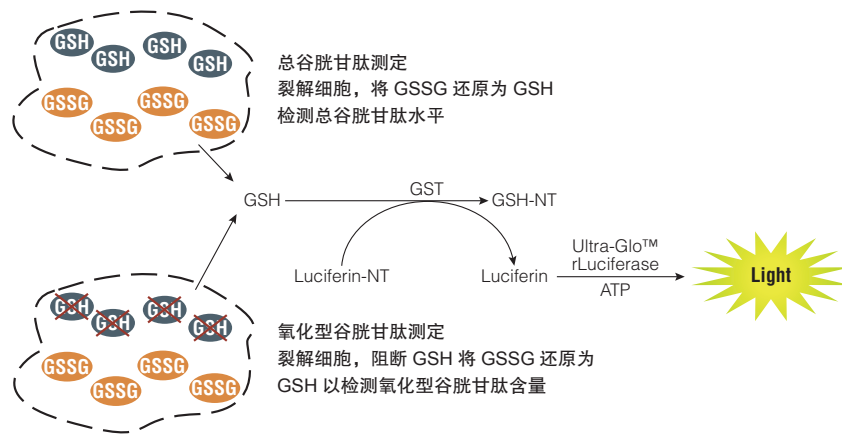
### GSH 检测:

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。



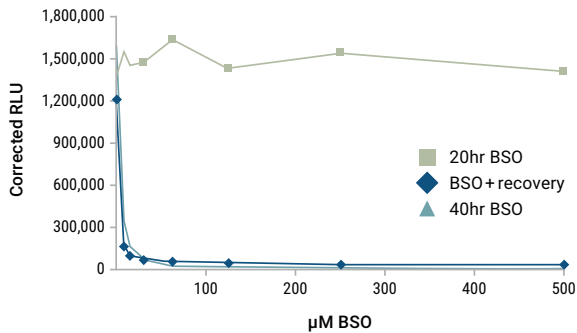
## ■ 产品特点

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

检测代谢物	产品	规格	目录号
还原型谷胱甘肽 (GSH)	GSH-Glo™ Glutathione Assay	10ml	V6911
		50ml	V6912
氧化性谷胱甘肽 (GSSG) 与总谷胱甘肽 (GSH+GSSG) 比率	GSH/GSSG-Glo™ Assay	10ml	V6611
		50ml	V6612

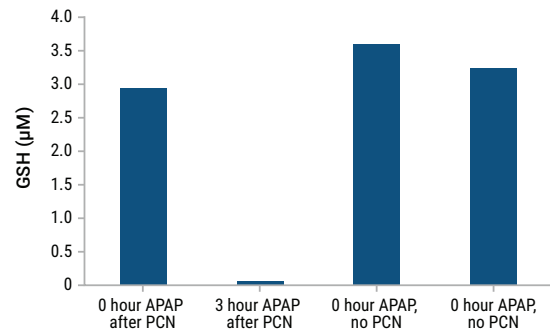
## ■ GSH 检测应用

### 处理后细胞中 GSH 消耗和恢复



上图: 20hr BSO: 用 BSO 处理细胞 20 小时后测定 GSH。  
BSO+Recovery: 用 BSO 处理细胞 20 小时, 然后用 PBS 洗涤 2 次, 并加入新鲜的不含 BSO 的培养基。40 小时后测定细胞中的 GSH。  
40hr BSO: 用 BSO 处理的细胞, 20 小时后洗涤, 然后加入含 BSO 的新鲜培养基。40 小时后测定细胞中的 GSH。

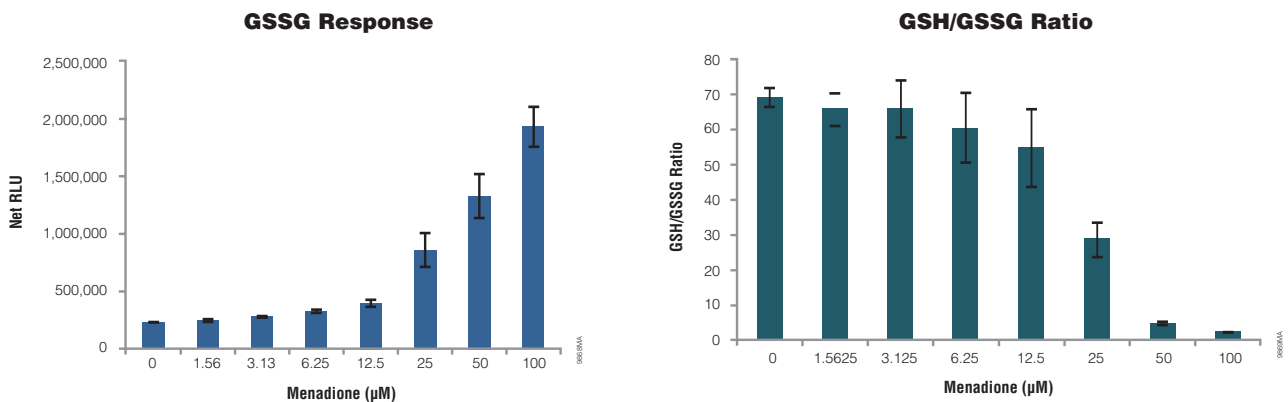
### APAP 在肝细胞中消耗 GSH



上图: 用 GSH-Glo™ Glutathione Assay 测量 24 孔板中贴壁细胞裂解液中的 GSH 水平。通过使用生物发光系统得到的 GSH 标准曲线利用内插法来确定 GSH 浓度。仅在用 P450 诱导剂 30µM pregnenolone 16a-carbonitrile (PCN) 处理两天后, 再用 5mM 对乙酰氨基酚 (APAP) 处理 3 小时, GSH 显著降低, 而仅用 APAP 或 PCN 处理引起的 GSH 水平变化不大。

## ■ GSH/GSSG 检测应用

### 直接测定原代细胞或细胞系中谷胱甘肽的变化



上图: 使用含有不同浓度 menadione 的 HBSS 溶液处理 A549 肺癌细胞 (5000 细胞 / 孔) 60 分钟。

### 相比传统方法, GSH/GSSG-Glo™ Assay 使用更少量的细胞即可检测总的谷胱甘肽、GSSG 或测定 GSH/GSSG 比值

细胞系	细胞数 / 孔	GSH (nmol/10 <sup>6</sup> cells)		GSSG (nmol/10 <sup>6</sup> cells)	
		溶剂组	处理组	溶剂组	处理组
HeLa	5,000	5.18	4.27	0.08	1.02
HepG2	5,000	2.13	1.41	0.03	0.40
HepG2	10,000	4.57	3.33	0.05	0.79
HepaRG®	50,000	5.96	3.24	0.13	0.71
A549	5,000	5.58	4.31	0.06	0.33
Rat hepatocytes	20,000	6.24	5.09	0.30	1.71

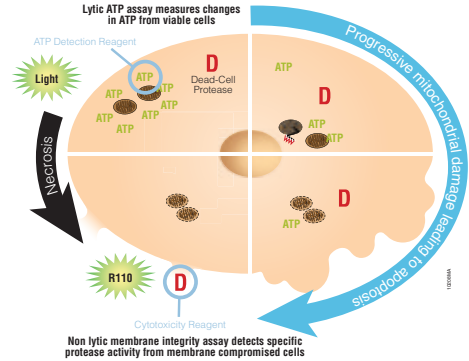
# 线粒体功能检测

## Mitochondrial ToxGlo™ Assay

通过叠加检测细胞膜的完整性以及细胞内的 ATP 水平检测方法来预测外源化合物对线粒体功能异常的可能影响。

### ■ 反应原理

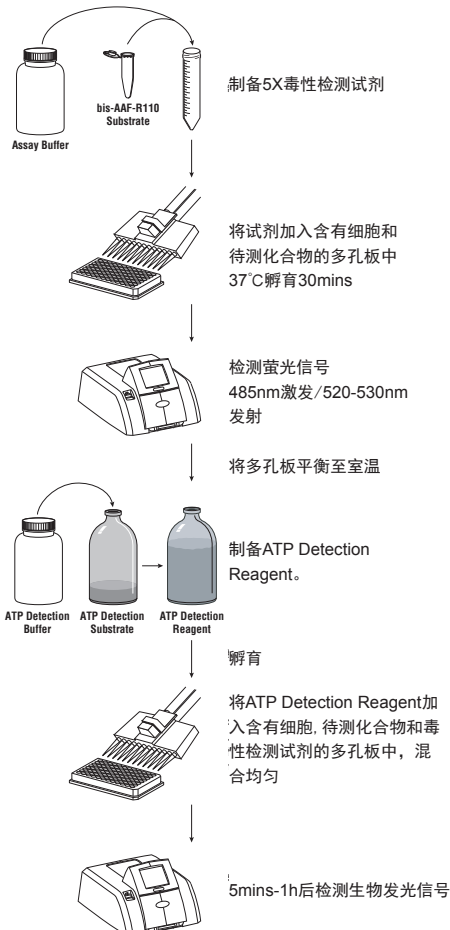
细胞膜的完整性是通过检测与细胞坏死相关联的一个独特的“死细胞蛋白酶”的活性来确定。ATP 的测定是通过加入 ATP 检测试剂来进行的。综合这两组数据，可以分析是线粒体功能异常还是非线粒体的细胞毒性相关的机制。



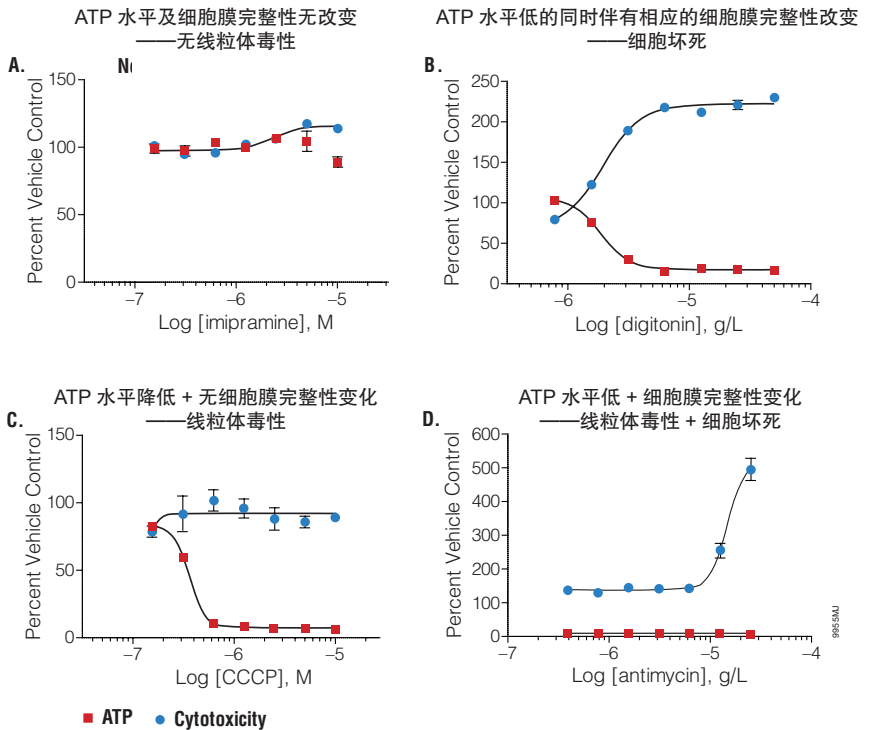
### ■ 产品特点

- ✓ 同一孔中叠加检测：同时检测 ATP（最能反映线粒体功能的检测方法）和细胞膜完整性的生物标志物，在同一样品孔中将原发性的线粒体功能障碍与继发性细胞毒性事件区分开来。
- ✓ 预测线粒体毒性：产生与线粒体毒性一致、并与其他引起细胞死亡的非线粒体机制区分开来的数据谱。
- ✓ 操作快速：简单的“加样 - 混合 - 读取”模式，在 1 小时内即可快速评估线粒体的潜在功能障碍。

### ■ 操作步骤



### ■ 实验举例



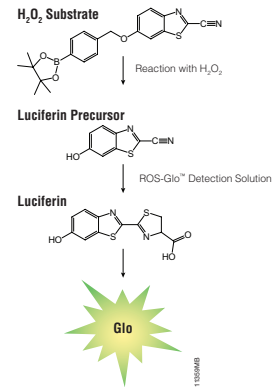
产品	规格	目录号
Mitochondrial ToxGlo™ Assay	10ml	G8000
	100ml	G8001

# ROS 水平检测 ROS-Glo™ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Assay

ROS-Glo™ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 水平，过氧化氢是各种 ROS 中最稳定的种类。

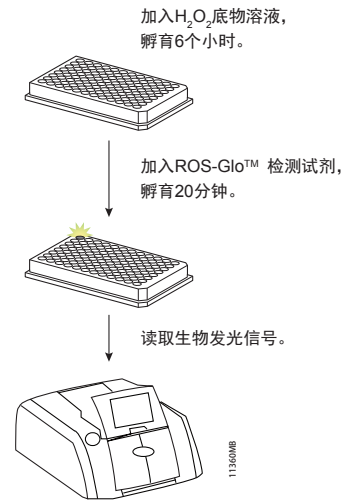
## 反应原理

萤光素衍生物底物与样品共孵育，可直接与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 水平成正比。

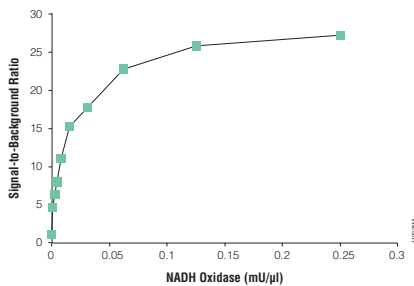


## 产品特点

- ✓ **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™ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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。

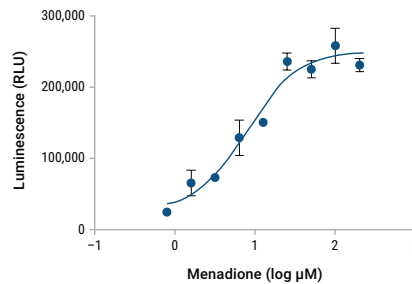


### 测定 NADH 氧化酶活性



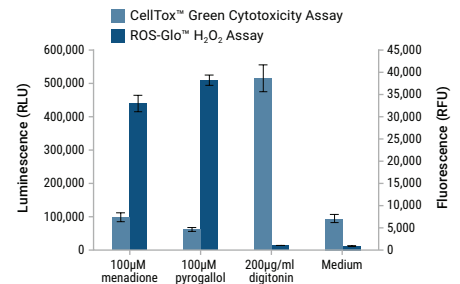
上图：通过将浓度升高的 NADH 氧化酶与 NADH 在酶反应缓冲液中一同孵育来测定 NADH 氧化酶活性，并通过 ROS-Glo™ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Assay 测定生成的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>，从而确定 NADH 氧化酶活性。在确定 NADH 氧化酶和 NADH 底物的适当水平后，该方法可以用于在化学文库中通过降低的发光信号来识别该酶的抑制剂。

### 测定培养细胞中的 ROS 诱导



上图：使用 ROS-Glo™ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 检测甲萘醌处理所致的 K562 细胞中浓度依赖的 ROS 增加。本试验可在各种的细胞培养基 (含或不含血清) 中进行，无需在进行本试验前将培养基从培养细胞中去除。

### 多重检测，一孔可获得更多信息



上图：HepG2 细胞用产生 ROS 的化合物 (甲萘醌或邻苯三酚) 或细胞毒性诱导试剂 (洋地黄皂苷) 处理，37℃ 孵育 2 小时。细胞毒性检测试剂 CellTox™ Green 染料和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 底物在给药的时候添加。CellTox™ Green 染料孵育后测定荧光。然后加入 ROS-Glo™ 检测液，孵育 20 分钟后，测定发光信号。

产品	规格	目录号
ROS-Glo™ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Assay	10ml	G8820
	50ml	G8821



## 萤火虫萤光素酶载体应激信号通路分析

- ✓ 细胞转录
- ✓ 化合物筛选
- ✓ GPCR 信号转导
- ✓ 病毒 - 细胞相互作用
- ✓ 翻译后修饰
- ✓ 细胞信号

构建具有功能性信号通路指示物的细胞系对于解码信号通路中的元件是非常有用的。这些工具是通过在最小启动子 (minP) 的上游插入多个重复的应答元件构建而成的。Promega 设计的载体以 pGL4 为骨架并使用优化的 *luc2* 萤火虫萤光素酶基因来报告多种信号通路的活动。这些载体还带有潮霉素抗性选择标记, 因而既可用于瞬时转染实验也可在筛选稳定表达细胞系时使用。除了这些预先设计好的带有应答元件的载体, 我们还有一些相应的稳定表达细胞系 (GloResponse™ 细胞系), 可帮助加速您的研究。

应答元件	规格	目录号
ARE	20ug	E3641
ATF6 ERSE	20ug	E3661
HRE	20ug	E4001
HSE	20ug	E3751
MRE	20ug	E4131
p53 RE	20ug	E3651
XRE	20ug	E4121

了解其他信号通路载体, 请咨询 Promega 公司。

## 亚硝酸盐检测 Griess Reagent System

Griess Reagent System(Griess 试剂系统) 检测亚硝酸盐 ( $\text{NO}_2^-$ ), 是两种主要的稳定和不挥发的一氧化氮 (NO) 的分解产物之一。一氧化氮是一种重要的生理功能信使和多种生物学系统的效应分子, 包括免疫、神经和心血管组织。此检测试剂盒依赖于 Griess 在 1879 年描述的重氮化反应, 并经过了多年的改良。

### ■ 反应原理

Griess 试剂系统是基于在酸性条件下 (磷酸) 使用磺胺和 NED(N-1-naphthylethylenediamine dihydrochloride) 的化学反应。此系统可检测不同生理和实验的液体 (如血浆、血清、尿液和组织培养基)。亚硝酸盐灵敏度取决于基质。

产品	规格	目录号
Griess Reagent System	1,000 assays	G2930

## 可定制产品

✓ 了解以下定制产品请咨询 Promega 公司。

检测靶标	产品
PCSK9 抑制剂	PCSK9 bioassay (cell lines)
葡萄糖转运蛋白 GLUT4	GLUT4 Receptor assay (cell line)
支链氨基酸 BCAA	BCAA-Glo
胰岛素和胰高血糖素	Lumit Insulin and Glucagon Immunoassays

[www.promega.com.cn/products/energy-metabolism/](http://www.promega.com.cn/products/energy-metabolism/)



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](http://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](mailto:chinatechserv@promega.com)

印刷时间: 2020.3