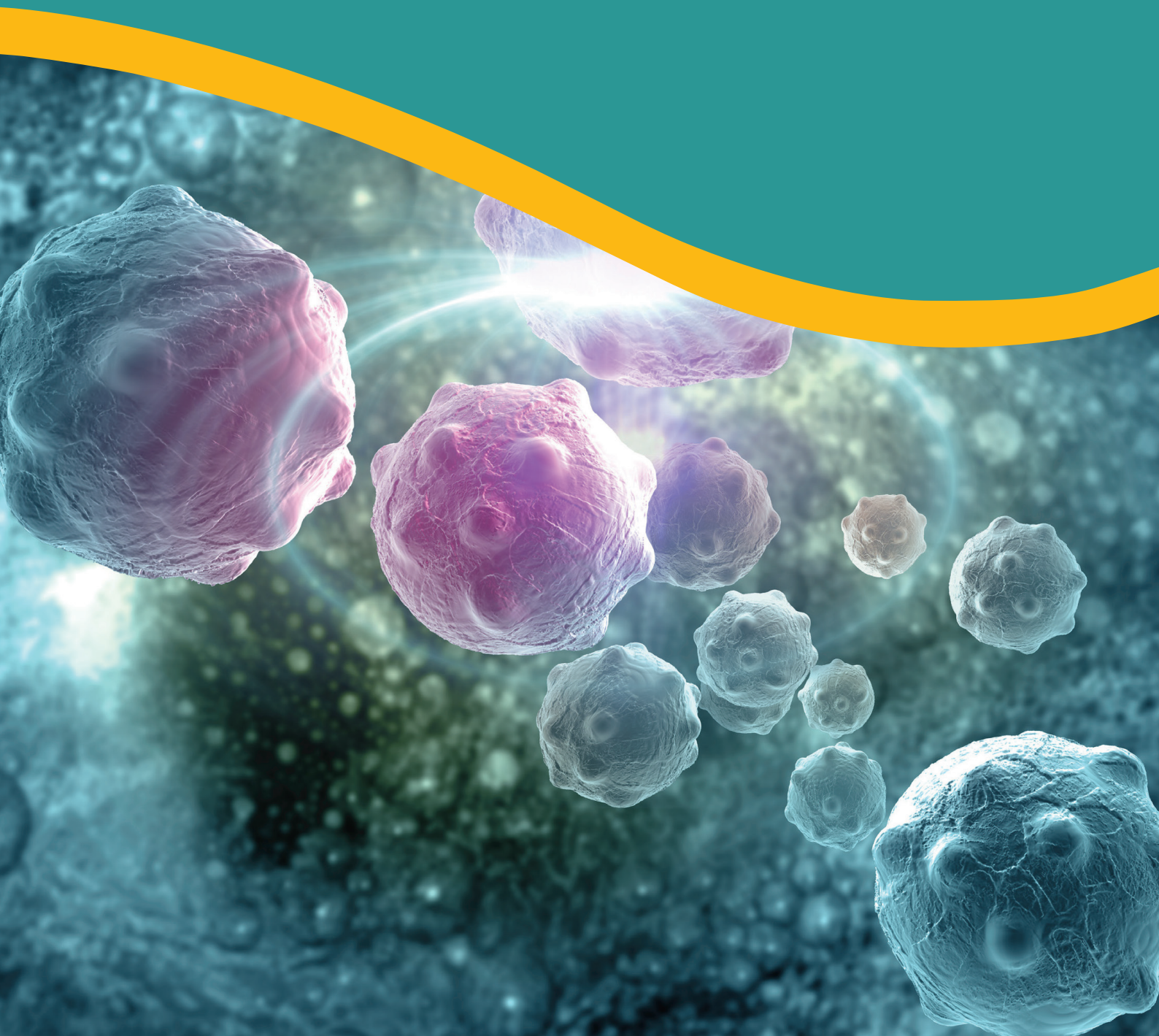


# 3D 培养模型检测解决方案

## *3D Cell Analysis*

提供经过验证的检测方法

高灵敏度 | 操作简单 | 高通量



# 目录

Promega 为您提供以下经过验证的 3D 培养模型检测方法。

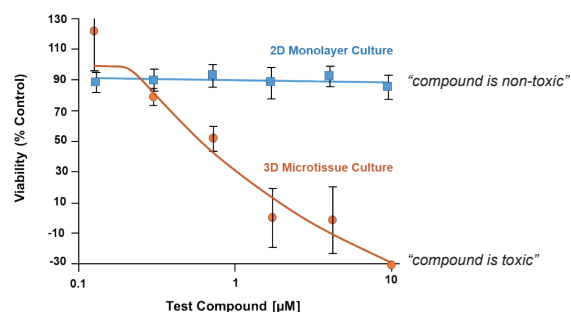
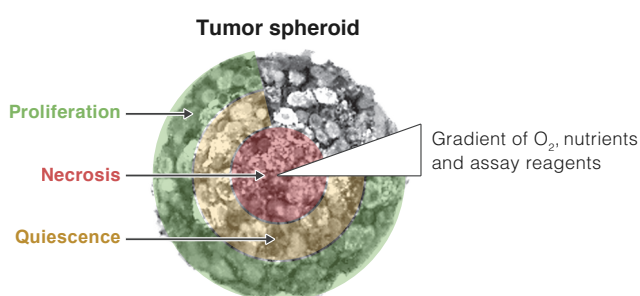
<b>3D 培养介绍</b> .....	<b>3</b>
<b>3D 培养模型的细胞健康检测</b> .....	<b>6</b>
• 细胞活力检测（裂解型 & 非裂解型） .....	7
• 细胞毒性检测（LDH 释放、DNA 荧光标记） .....	10
• 细胞凋亡检测（Caspase 3/7, PS 外翻） .....	12
• 自噬检测（LC3） .....	14
• 细胞色素 P450 (CYP) 活性检测 .....	15
<b>3D 培养模型的细胞代谢检测</b> .....	<b>16</b>
• 二核苷酸检测（NADP/NADPH） .....	17
• 代谢物检测（Glucose, Lactate, Glutamate, Triglyceride, Glycerol-Glo, Cholesterol/Cholesterol Ester 等） .....	18
• 氧化应激检测（ROS, GSH/GSSG） .....	20
• ICD 生物标志物检测（胞外 ATP） .....	22
<b>其他适用于 3D 培养模型的检测</b> .....	<b>23</b>
• 分泌型指标检测（Lumit™ 免疫检测） .....	24
• RNA 提取系统 .....	25
• qPCR 检测系统 .....	25
• 多功能检测仪 .....	26
<b>产品订购信息</b> .....	<b>27</b>

类器官、球状体等 3D 培养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 培养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 3D 培养模型检测方案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。

Promega 可以提供细胞活力、毒性、凋亡、代谢、基因表达等经过验证的专用于 3D 培养物的检测方法。灵敏度高，操作简单，可实现高通量检测，并且兼容多种如类器官的 3D 培养系统。

## 为什么要使用 3D 培养模型

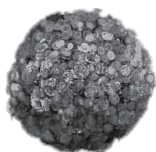
很长一段时间以来，科学家们一直依靠平板培养的 2D 细胞来研究细胞和疾病的机制。2D 细胞模型对于细胞培养和处理当然简单且经济。然而，我们可以看到在过去的十年里，3D 细胞培养越来越受欢迎，因为它们生理上更为相关，更能代表体内组织。



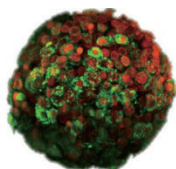
### 3D 培养具有以下优势：

- 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 培养模型可模拟微环境条件，如缺氧和营养梯度，也能更好地模拟组织样结构；
- 3D 培养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；
- 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；
- 3D 培养是基础、转化和临床研究的自然整合点，能更好地预测药物治疗的体内反应。

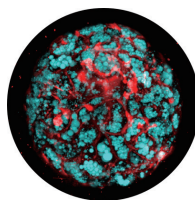
### 3D 培养类型



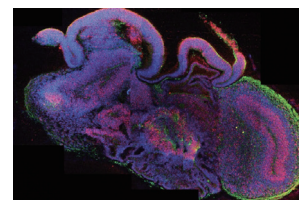
单细胞培养



多细胞型有机培养物



成体或肿瘤干细胞类  
器官培养物



iPSC 衍生的 "类器官"  
培养物

### 3D 培养方式

#### 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<sup>®</sup>、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<sup>®</sup>）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：

- 超低吸附板：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。

#### 微流控系统

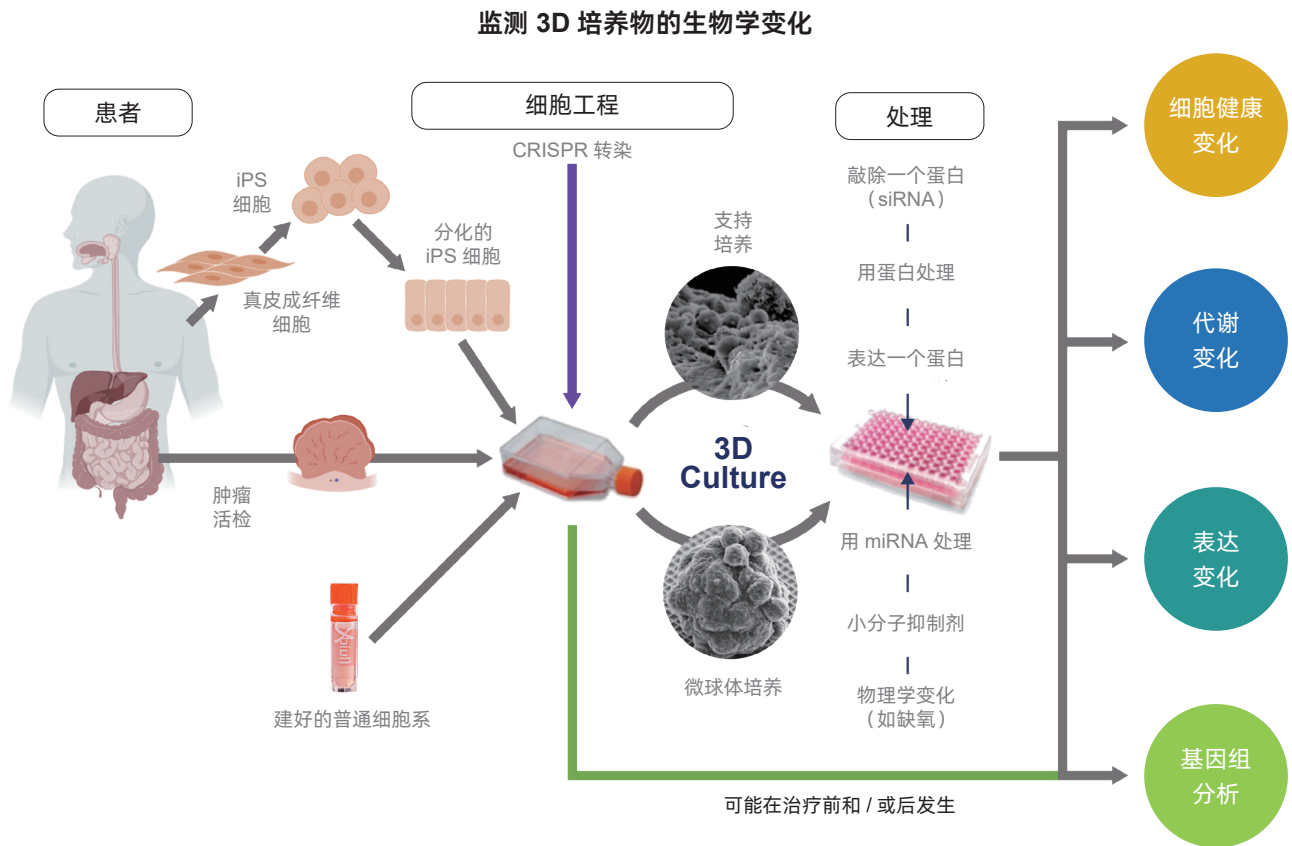
Microfluidic chip 是一种三维微流控细胞培养芯片，其设计用于模拟器官的生理。3D 细胞生长在微芯片内部的支架上，微小的通道允许液体（微升到皮升）在细胞培养物内运输和分配营养物质或其他化学物质。

#### 3D 生物打印

3D 生物打印利用 3D 打印技术，将含有细胞、生长因子和生物材料的生物墨水打印出仿生组织结构的新兴技术。它通过计算机三维模型为“图纸”，装配特制的“生物墨水”，最终制造出人造器官和生物医学产品。

### 3D 培养模型的应用

3D 培养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。



### 3D 培养模型的细胞学检测

为什么大多数现有的基于 2D 细胞的分析方法不适用于 3D 检测？

这些方法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方法是至关重要的。

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 培养模型的细胞健康检测

## Cell Health Changes in 3D

### 细胞活力检测

- CellTiter-Glo<sup>®</sup> 3D Cell Viability Assay
- RealTime-Glo<sup>™</sup> MT Cell Viability Assay

### 细胞毒性检测

- CellTox<sup>™</sup> Green Cytotoxicity Assay
- LDH-Glo<sup>™</sup> Cytotoxicity Assay

### 细胞凋亡检测

- Caspase-Glo<sup>®</sup> 3/7 3D Assay
- RealTime-Glo<sup>™</sup> Annexin V Apoptosis and Necrosis Assay

### 自噬检测

- Autophagy LC3 HiBiT Reporter Assay

### 细胞色素活性检测

- P450-Glo<sup>™</sup> Assays

下载完整  
《细胞健康解决方案》



# 细胞活力检测—经典 ATP 裂解法

## CellTiter-Glo<sup>®</sup> 3D Cell Viability Assay

裂解性检测 (终点法)

生物发光检测

目录号 | 规格

G9681 | 10ml

G9682 | 10X10ml

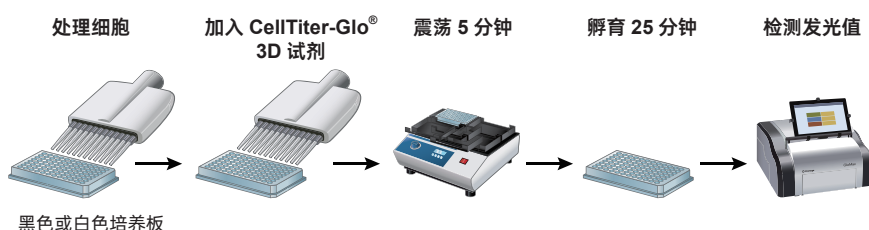
G9683 | 100ml

CellTiter-Glo<sup>®</sup> 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<sup>®</sup> 3D Cell Viability Assay 基于经典 CellTiter-Glo<sup>®</sup> 检测原理，萤光素酶反应依赖活细胞中的 ATP，产生的光正比于活细胞的数量，专门为检测 3D 微组织球的细胞活力而优化。了解更多 CellTiter-Glo<sup>®</sup> 3D Cell Viability Assay 的信息请扫描右侧二维码。



### 优化的检测方案更适合 3D 培养模型，30min 获得结果

- 增加洗涤剂的量
- 增加震荡和孵育的时间
- 耐受性和热稳定性更强的 Ultra-Glo<sup>™</sup> 重组萤光素酶



### 更强的裂解力和渗透力，更完全的释放 ATP

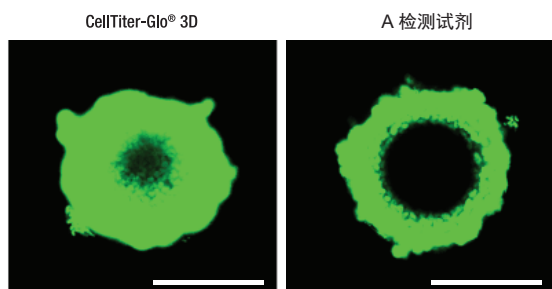


图. 将不同数量的 HCT116 细胞 (RPMI 培养基 +10% FBS) 接种在 InSphero GravityPLUS<sup>™</sup> 96 孔悬滴培养板，培养 4 天。

2X CellTox<sup>™</sup> 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<sup>®</sup> 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 300 $\mu$ m。

### 与荧光法和吸光法相比，有更出色的灵敏度

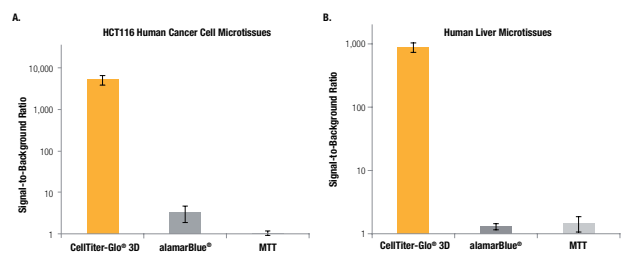


图. CellTiter-Glo<sup>®</sup> 3D 细胞活力检测试剂盒和 alamarBlue 法、MTT 法细胞活力检测方法的检测结果。

A. 将 HCT116 细胞 (RPMI 培养基 +10% FBS) 接种在 InSphero GravityPLUS<sup>™</sup> 96 孔悬滴培养板，培养 4 天后形成的直径约 340 $\mu$ m 的微组织。

B. InsightT<sup>™</sup> 人肝脏微组织 (~250 $\mu$ m) 由 InSphero 提供。所有微组织均使用 CellTiter-Glo<sup>®</sup> 3D, alamarBlue<sup>®</sup> 和 MTT 方法检测 (按制造商操作说明操作)。CellTiter-Glo<sup>®</sup> 3D, alamarBlue<sup>®</sup> 和 MTT 方法所需总的操作时间分别为 30 分钟、3 小时和 8 小时。

经过验证的可适用的 3D 培养模型 (见下页)

## 与不同的 3D 培养方式或模型兼容

3D 培养模型	细胞类型	参考文献
Mouse liver organoid 小鼠肝脏类器官	MDA-MB-231, MCF7 and LoVo cell lines	Palazzolo, S. <i>et al.</i> (2019) An effective multi-stage liposomal DNA origami nanosystem for in vivo cancer therapy. <i>Cancers</i> <b>11</b> , 1997. PMID: <a href="#">31842277</a>
Colon and SI organoids 结肠和小肠类器官	healthy tissue section	Rodrigues, D., <i>et al.</i> (2022) Unravelling mechanisms of doxorubicin-induced toxicity in 3D human intestinal organoids. <i>Int. J. Mol. Sci.</i> <b>23</b> , 1286. PMID: <a href="#">35163210</a>
Spheroid 微球体	A549, HCT116, HEPG2, MCF7, PANC1, SKOV3, U87MG, 4T1, SAR120, SAR121	Peirsman, A., <i>et al.</i> (2021) MISpheroid: a knowledgebase and transparency tool for minimum information in spheroid identity. <i>Nat. Methods</i> <b>18</b> , 1294–1303. PMID: <a href="#">34725485</a>
Spheroid 微球体	HepG2, HB-8065	Eilenberger, C., <i>et al.</i> (2019) Effect of spheroidal age on sorafenib diffusivity and toxicity in a 3D HepG2 spheroid model. <i>Sci. Rep.</i> <b>9</b> (1):4863. PMID: <a href="#">30890741</a>
Liver organoids chip 肝类器官芯片	Liver organoids on-chip HUVECs, HLECs	Busek, M., <i>et al.</i> (2023) Pump-less, recirculating organ-on-a-chip (rOoC) platform. <i>Lab Chip</i> <b>23</b> , 591–608. PMID: <a href="#">36655405</a>
bone-on-a-chip 骨芯片	IDG-SW3 and MC3T-E1 cells	Paek, K., <i>et al.</i> (2022) A high-throughput biomimetic bone-on-a-chip platform with artificial intelligence-assisted image analysis for osteoporosis drug testing. <i>Bioeng. Transl. Med.</i> <b>8</b> , e10313. PMID: <a href="#">36684077</a>
Microfluidic chip 微流控芯片	TU-BcX-4IC	Cromwell, E.F., <i>et al.</i> (2022) Multifunctional profiling of triple-negative breast cancer patient-derived tumoroids for disease modeling. <i>SLAS Discovery</i> <b>27</b> , 191–200. PMID: <a href="#">35124274</a>
liver-chip microfluidic platform 肝微流控芯片	PHH	Cox, B., <i>et al.</i> (2022) Setup of human liver-chips integrating 3D models, microwells and a standardized microfluidic platform as proof-of-concept study to support drug evaluation. <i>Biomaterials and Biosystems</i> <b>7</b> , 100054. PMID: <a href="#">36824483</a>
3D Bio printed Spheroids 3D 打印微球体	–	Zhang Y, Wang Z, Hu Q, Luo H, Lu B, Gao Y, Qiao Z, Zhou Y, Fang Y, Gu J, Zhang T, Xiong Z. 3D Bioprinted GelMA-Nanoclay Hydrogels Induce Colorectal Cancer Stem Cells Through Activating Wnt/ $\beta$ -Catenin Signaling. <i>Small</i> . 2022 May;18(18):e2200364. PMID: <a href="#">35229478</a>

3D 培养方法	生产商	细胞类型	参考文献
ULA 超低吸附板	Corning	MCF-7 and SKBR-3	Novohradsky, V. <i>et al.</i> (2019) <i>Sci. Rep.</i> <b>9</b> , 13327. PMID: <a href="#">31527683</a>
	Corning	1° Hepato-cellular carcinoma tumoroid	Gavini, J. <i>et al.</i> (2019) <i>Cell Death Dis.</i> <b>10</b> , 749. PMID: <a href="#">31582741</a>
	Sumitomo Bakelite	1° human ovary & endometrial cells	Yoshimura, C. <i>et al.</i> (2019) <i>Mol. Cancer Ther.</i> <b>18</b> , 1205–1216. PMID: <a href="#">31092565</a>
	Sumitomo Bakelite	A549	Akizuki, R. <i>et al.</i> (2018) <i>Biochim. Biophys. Acta-Mol. Cell Res.</i> <b>1865</b> , 769–780. PMID: <a href="#">29524521</a>
	Greiner Bio-One	COV434, KGN	Gogola, J., Hoffmann, M., and Ptak, A. (2019) <i>Chemosphere</i> <b>217</b> , 100–110. PMID: <a href="#">30414542</a>
	Greiner Bio-One	1° pediatric high-grade gliomas	Metselaar, D.S. <i>et al.</i> (2019) <i>EBioMedicine</i> <b>50</b> , 81–92. PMID: <a href="#">31735550</a>
Hydrogel 水凝胶	Corning (Matrigel®)	1° human and mouse intestinal epithelial cells	VanDussen, K.L., Sonnek, N.M. and Stappenbeck, T.S. (2019) <i>Stem Cell Res.</i> <b>37</b> , 101430. PMID: <a href="#">30933720</a>
	Corning (Matrigel®)	Human rectal cancer organoids	Yao, Y. <i>et al.</i> (2020) <i>Cell Stem Cell</i> <b>26</b> , 17–26. PMID: <a href="#">31761724</a>
	Thermo Fisher (Cultrex®)	Human and Mouse Bladder Organoids	Mullenders, J. <i>et al.</i> (2019) <i>PNAS</i> <b>116</b> , 4567–4574. PMID: <a href="#">30787188</a>
	Thermo Fisher (Cultrex®)	SW620	Abraham, A.D. <i>et al.</i> (2019) <i>J. Med. Chem.</i> <b>62</b> , 10182–10203. PMID: <a href="#">31675229</a>
	Lab-made gel from heart and liver ECMS	iCell® Cardiomyocytes & Hepatocytes	Yu, C. <i>et al.</i> (2019) <i>Biomaterials</i> <b>194</b> , 1–13. PMID: <a href="#">30562651</a>
	Lab-made peptide-modified hyaluronic acid-based gel	Neuralized H9 human embryonic stem cells	Seidlits, S.K. <i>et al.</i> (2019) <i>J. Biomed. Mater. Res. A</i> <b>107</b> , 704–718. PMID: <a href="#">30615255</a>
	Lab-made alginate, collagen, gelatin & methacrylated gelatin gels	Human mesenchymal stem cells	Bedell, M.L. <i>et al.</i> (2020) <i>Bioprinting</i> <b>17</b> , e00068. DOI: <a href="#">10.1016/j.bprint.2019.e00068</a>
Lab-made crosslinked plasma protein gel	Human dermal Fibroblasts	Barreda, L. <i>et al.</i> (2019) <i>J. Mech. Behav. Biomed. Mater.</i> <b>89</b> , 107–113. PMID: <a href="#">30267992</a>	



# 细胞活力检测 - 细胞还原电位实时监测

## RealTime-Glo™ MT Cell Viability Assay

非裂解性检测 (72h 实时)

生物发光检测

目录号 | 规格

G9711 | 100 assays

G9712 | 10×100 assays

G9713 | 1,000 assays

非裂解性、均质、非 ATP 依赖的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，也无需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。

### 实时监测与终点法裂解法检测结果相一致

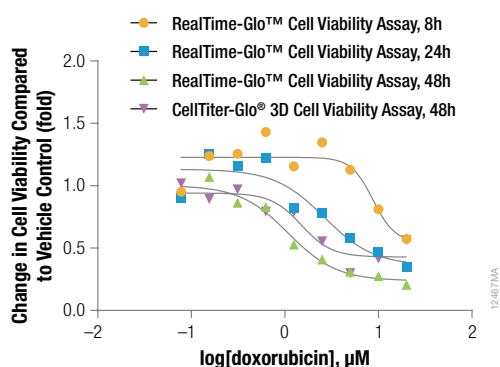


图. 使用 RealTime-Glo™ MT Cell Viability Assay 和 CellTiter-Glo® 3D Assay 检测多柔比星处理的 HCT116 微球体。直径约为 520µm 的 HCT116 微球体在 48 小时内经过的不同浓度多柔比星的处理。其中一部分微球体使用 RealTime-Glo™ MT Cell Viability Assay 在 8 小时、24 小时和 48 小时的时间点进行检测并记录数据。另一部分微球体则在 48 小时采用 CellTiter-Glo® 3D Assay 进行检测。发光强度通过 GloMax® Discover 微孔板读数仪进行测量。

RealTime-Glo™ Assay at 8 hours    RealTime-Glo™ Assay at 24 hours    RealTime-Glo™ Assay at 48 hours    CellTiter-Glo® Assay at 48 hours

EC<sub>50</sub> Value (µM)

8.77	2.65	1.09	1.50
------	------	------	------

### 适用于常见 3D 培养模型及参考文献

3D 培养模型	细胞类型	参考文献
Spheroid, ULA 微球体	Neubauer Chamber. OvCa cells or primary cells	Hedemann, N., et al. (2021) ADAM17 inhibition increases the impact of cisplatin treatment in ovarian cancer spheroids. <i>Cancers</i> <b>13</b> , 2039. PMID: <a href="#">33922533</a>
Microfluidic device, called VITVO 微流控芯片	A673, BxPC3, U87MG, Bt549	Candini, O. et al. (2019) A novel 3D in vitro platform for pre-clinical investigations in drug testing, gene therapy, and immuno-oncology. <i>Sci. Rep.</i> <b>9</b> , 7154. PMID: <a href="#">31073193</a>
Flow chip 微流控芯片	TU-BcX-4IC	Cromwell, E.F., et al. (2022) Multifunctional profiling of triple-negative breast cancer patient-derived tumoroids for disease modeling. <i>SLAS Discovery</i> <b>27</b> , 191–200. PMID: <a href="#">35124274</a>
Lab-made thiolated hyaluronidate 水凝胶	human mesenchymal stem cells	Ferreira, S.A. et al. (2018) Neighboring cells override 3D hydrogel matrix cues to drive human MSC quiescence. <i>Biomaterials</i> <b>176</b> , 13–23. PMID: <a href="#">29852376</a>
Organoid, Matrigel® 类器官, 水凝胶	patient-derived colorectal cancer organoid	Codrich, M. et al. (2019) Inhibition of APE1-endonuclease activity affects cell metabolism in colon cancer cells via a p53-dependent pathway. <i>DNA Repair</i> <b>82</b> , 102675. PMID: <a href="#">31450087</a>
Organoid, collagen and fibronectin/collagen hydrogels 类器官, 水凝胶	human and rat liver organotypic sandwich culture	Orbach, S.M., Ehrlich, M.F. and Rajagopalan, P. (2018) Highthroughput toxicity testing of chemicals and mixtures in organotypic multi-cellular cultures of primary human hepatic cells. <i>Toxicol. In Vitro</i> <b>51</b> , 83–94. PMID: <a href="#">29751030</a>

# 细胞毒性检测 - 细胞膜完整性实时监测

## CellTox™ Green Cytotoxicity Assay

72h 实时检测

DNA 结合荧光染料

目录号 | 规格

G8741 | 10 ml

G8742 | 50 ml

G8743 | 100 ml

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。

## CellTox™ Green 细胞毒性检测与 CellTiter-Glo® 3D 细胞活力检测叠加使用

CellTox™ Green Assay 通常用于细胞活力检测的上游，真正由于细胞毒性导致的活力下降，同时应该伴随细胞毒性的上升。

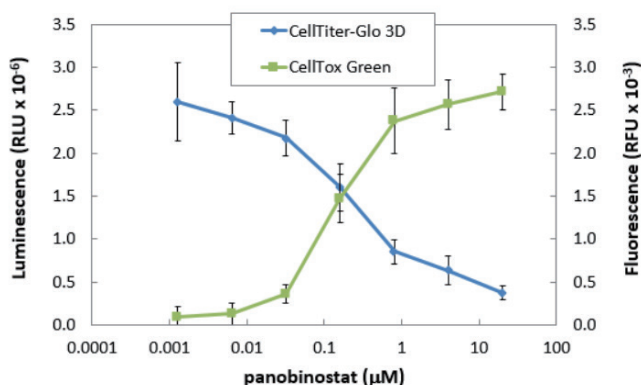


图. HCT116 结肠癌球状体在 96 孔悬滴板中培养 4 天。之后向培养体系中加入帕纳布尼司他 (Panabinstat) 以及 CellTox™ Green 染料，继续孵育 48 小时。记录荧光信号后，向各孔加入等量的 CellTiter-Glo® 3D 试剂，震荡 5 分钟，接着在 30 分钟孵育后记录发光值。

## 适用于常见 3D 培养模型及参考文献

3D 培养模型和基质	细胞类型	参考文献
Patient-derived organoids 类器官	PDOX-derived cells (P3, T16, and T188)	Neirinckx, V. et al. (2019) The soluble form of pan-RTK inhibitor and tumor suppressor LIG1 mediates downregulation of AXL through direct protein-protein interaction in glioblastoma. <i>Neuro-Oncology Adv.</i> <b>1</b> , vdz024. PMID: <a href="#">32642659</a>
Spheroid, ULA 微球体	Neubauer Chamber. OvCa cells or primary cells	Hedemann, N., et al. (2021) ADAM17 inhibition increases the impact of cisplatin treatment in ovarian cancer spheroids. <i>Cancers</i> <b>13</b> , 2039. PMID: <a href="#">33922533</a>
Spheroid 微球体	HepG2 and A498 cells	Obinu, A. et al. (2019) Poly (ethyl 2-cyanoacrylate) nanoparticles(PECA-NPs) as possible agents in tumor treatment. <i>Colloids Surf. B Biointerfaces</i> <b>177</b> , 520–528. PMID: <a href="#">30822627</a>
Spheroid 微球体	MCF-7 cell	Depping, R. et al. (2019) The nuclear export inhibitor selinexor inhibits hypoxia signaling pathway and 3D spheroid growth of cancer cells. <i>Onco Targets Ther.</i> <b>12</b> , 8387–8399. PMID: <a href="#">31632086</a>
Spheroid, Hydrogel 微球体, 水凝胶	MDA-MB-231 cells	Pahk, K.J. et al. (2019) Boiling histotrophy-induced partial mechanical ablation modulates tumour microenvironment by promoting immunogenic cell death of cancers. <i>Sci. Rep.</i> <b>9</b> , 9050. PMID: <a href="#">31227775</a>
Matrigel®/fibronectin matrix 水凝胶	EndoC-βH1 cells	Merriman, C. and Fu, D. (2019) Down- regulation of the islet-specific zinc transporter-8 (ZnT8) protects human insulinoma cells against inflammatory stress. <i>J. Biol. Chem.</i> <b>294</b> , 16992–17006. PMID: <a href="#">31591269</a>

# 细胞毒性检测 - 乳酸脱氢酶释放发光法

## LDH-Glo™ Cytotoxicity Assay

微量取样检测

生物发光检测

目录号 | 规格

J2380 | 10ml

J2381 | 50ml

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 (2-5 $\mu$ l), 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。

### 从一个样本孔中检测微球体时间依赖的细胞毒性

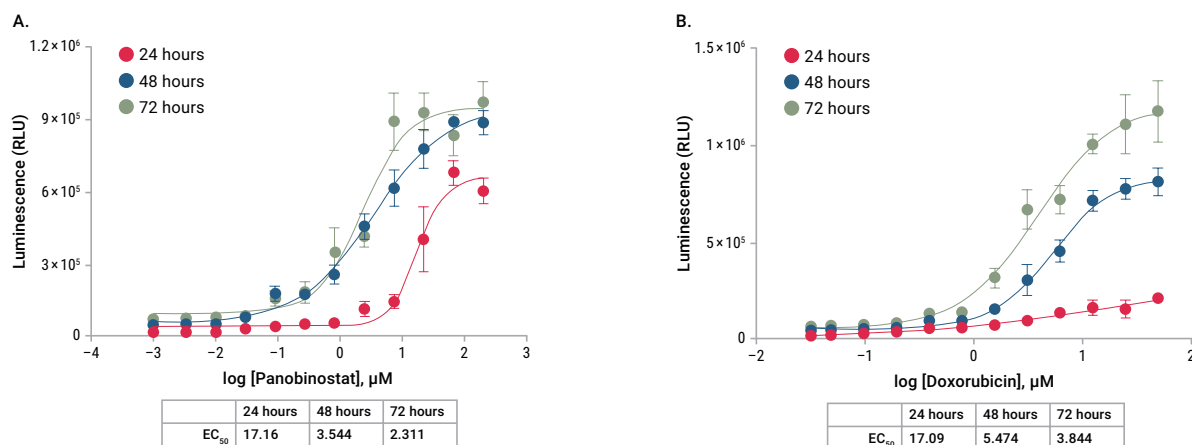


图. HCT116 细胞在 384 孔超低吸附 (ULA) 板 (康宁公司生产) 中培养成球状, 然后分别用帕比司他 (Panel A) 或阿霉素 (Panel B) 进行处理。在指定的时间点, 吸取 2.5 微升的培养基样本, 并以 1:10 的比例稀释后冷冻保存于 LDH 储存缓冲液中。样本解冻后, 进一步稀释 2.5 倍, 然后使用 LDH-Glo™ Assay 进行检测。

### 适用于常见 3D 培养模型及参考文献

3D 培养模型和基质	细胞类型	参考文献
Forebrain organoid 脑类器官	pluripotent stem cell (iPSC)	Bauersachs, H.G., <i>et al.</i> (2022) N-methyl-d-aspartate receptor-mediated preconditioning mitigates excitotoxicity in human induced pluripotent stem cell-derived brain organoids. <i>Neuroscience</i> <b>484</b> , 83–97. PMID: <a href="#">34958875</a>
Liver microtissue(hLiMT) 肝微组织	-	Ströbel, S., <i>et al.</i> (2021) A 3D primary human cell-based in vitro model of non-alcoholic steatohepatitis for efficacy testing of clinical drug candidates. <i>Sci Rep</i> <b>11</b> , 22765. PMID: <a href="#">34815444</a>
Microfluidic Organ-on-a-liver-chip, spheroid 肝微流控芯片, 微球体	PHH, NPC	Cox, B., <i>et al.</i> (2022) Setup of human liver-chips integrating 3D models, microwells and a standardized microfluidic platform as proof-of-concept study to support drug evaluation. <i>Biomaterials and Biosystems</i> <b>7</b> , 100054. PMID: <a href="#">36824483</a>
Liver Spheroid 肝微球体	NHBE cells	Bovard, D., <i>et al.</i> (2022) Impact of aerosols on liver xenobiotic metabolism: A comparison of two methods of exposure. <i>Toxicology in Vitro</i> <b>9</b> , 105277. PMID: <a href="#">34843886</a>

# 细胞凋亡检测 -Caspase 3/7 活性检测法

Caspase-Glo® 3/7 Assay  
Caspase-Glo® 3/7 3D Assay

裂解性, 高灵敏度

生物发光检测

目录号 | 规格

G8090 | 2.5ml

G8091 | 10ml

3D Assay:

G8981 | 10ml

G8982 | 100ml

G8983 | 10×10ml

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。Caspase-Glo® 3/7 3D Assay 为最新推出的专为 3D 检测而优化的系统, 但是经典版 Caspase-Glo® 3/7 Assay 也同样可以用于 3D 系统 (见参考文献)。

## 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 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。

## Matrigel® 包埋培养体系 Caspase 3/7 的活性检测

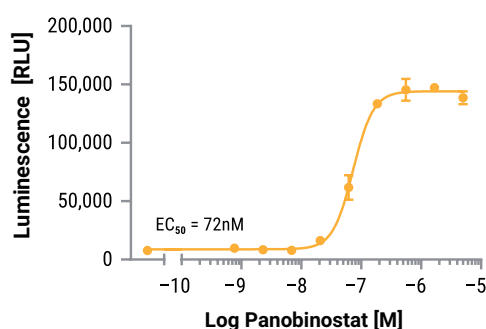
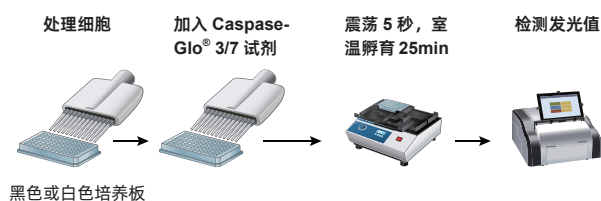


图. HCT116 细胞被嵌入 4.5mg/ml 的 Matrigel® 溶液中, 培养 4 天后, 使用泛伯尼司他进行梯度稀释。之后加入 Caspase-Glo® 3/7 3D 检测试剂来测定 caspase 3/7 的活性。

## 经过改良的检测步骤更适合 3D 培养

3D 培养模型检测步骤: 向培养细胞中加入试剂后, 振荡平板 5 min, 然后在检测生物发光信号前于室温下孵育 25 min。



## 适用于常见 3D 培养模型及参考文献

3D 培养模型和基质	细胞类型	参考文献
Spheroid, ULA 微球体	Neubauer Chamber. OvCa cells or primary cells	Hedemann, N., <i>et al.</i> (2021) ADAM17 inhibition increases the impact of cisplatin treatment in ovarian cancer spheroids. <i>Cancers</i> <b>13</b> , 2039. PMID: <a href="#">33922533</a>
Spheroid, ULA 微球体	Ovarian cancer cell lines OVCA429 and CH1	Tan, M. <i>et al.</i> (2019) The FZD7-TWIST1 axis is responsible for anoikis resistance and tumor genesis in ovarian carcinoma. <i>Mol. Oncol.</i> <b>13</b> , 757–780. PMID: <a href="#">30548372</a>
3D liver microtissue (MT) 肝微组织	primary human hepatocytes and primary human liver-derived NPC	Kermanizadeh, A. <i>et al.</i> (2019) The importance of inter-individual Kupffer cell variability in the governance of hepatic toxicity in a 3D primary human liver microtissue model. <i>Sci. Rep.</i> <b>9</b> , 7295. PMID: <a href="#">31086251</a>
Mouse liver organoid 小鼠类器官	MDA-MB-231, MCF7 and LoVo cell lines	Palazzolo, S. <i>et al.</i> (2019) An effective multi-stage liposomal DNA origami nano system for in vivo cancer therapy. <i>Cancers</i> <b>11</b> , 1997. PMID: <a href="#">31842277</a>
Hybrid hydrogel 杂化水凝胶	primary human umbilical vein endothelial cells and neuronal cells	Gaćanin, J. <i>et al.</i> (2019) Autonomous ultrafast self-healing hydrogels by pH-responsive function nanofiber gelators as cell matrices. <i>Adv. Mater.</i> <b>31</b> , 1805044. PMID: <a href="#">30411838</a>
Hydrogels, BioCoat Collagen I (Corning) microtiter plates 水凝胶	UM-Chor1 cells	Sharifnia, T. <i>et al.</i> (2019) Smallmolecule targeting of brachyury transcription factor addition in chordoma. <i>Nat. Med.</i> <b>25</b> , 292–300. PMID: <a href="#">30664779</a>

# 细胞凋亡检测 - PS 膜外翻凋亡 / 坏死实时监测

## RealTime-Glo™ Annexin V Apoptosis and Necrosis Assay

48h 实时监测

荧光 + 发光检测

目录号 | 规格

JA1011 | 100 assays

JA1012 | 1,000 assays

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。该方法可对 3D 培养模型进行长达 48 小时的监测。

### 检测原理

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。



### 球状体 3D 培养模型凋亡和继发性坏死的检测

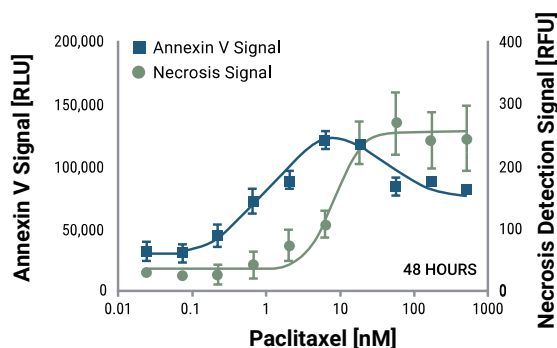


图. 凋亡和继发性坏死的检测. 用不同浓度的紫杉醇处理 HepG2 球形细胞 48 小时. 使用 RealTime-Glo™ Annexin V Apoptosis and Necrosis Assay 监测细胞凋亡的实时进展. 在 GloMax® Discover 多功能检测仪上检测发光和荧光。

### 适用于常见 3D 培养模型及参考文献

3D 培养模型和基质	细胞类型	参考文献
Spheroid 微球体	BxPC-3 pancreatic ductal adenocarcinoma cell line	Kota, S. <i>et al.</i> (2018) A novel three-dimensional high-throughput screening approach identifies inducers of a mutant KRAS selective lethal phenotype. <i>Oncogene</i> <b>37</b> , 4372–4384. PMID: <a href="https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29743592/">29743592</a>
Collagen/Matrigel® matrix 水凝胶	human pancreatic neuroendocrine tumors	Herring, B. <i>et al.</i> (2020) A growth model of neuroendocrine tumor surrogates and the efficacy of a novel somatostatin-receptor-guided antibody-drug conjugate: perspectives on clinical response? <i>Surgery</i> <b>167</b> , 197–203. PMID: <a href="https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31543319/">31543319</a>

# 细胞自噬标志物 LC3 检测

## Autophagy LC3 HiBiT Reporter Assay

裂解性，终点法

生物发光检测

目录号 | 规格

GA2550 | 1each

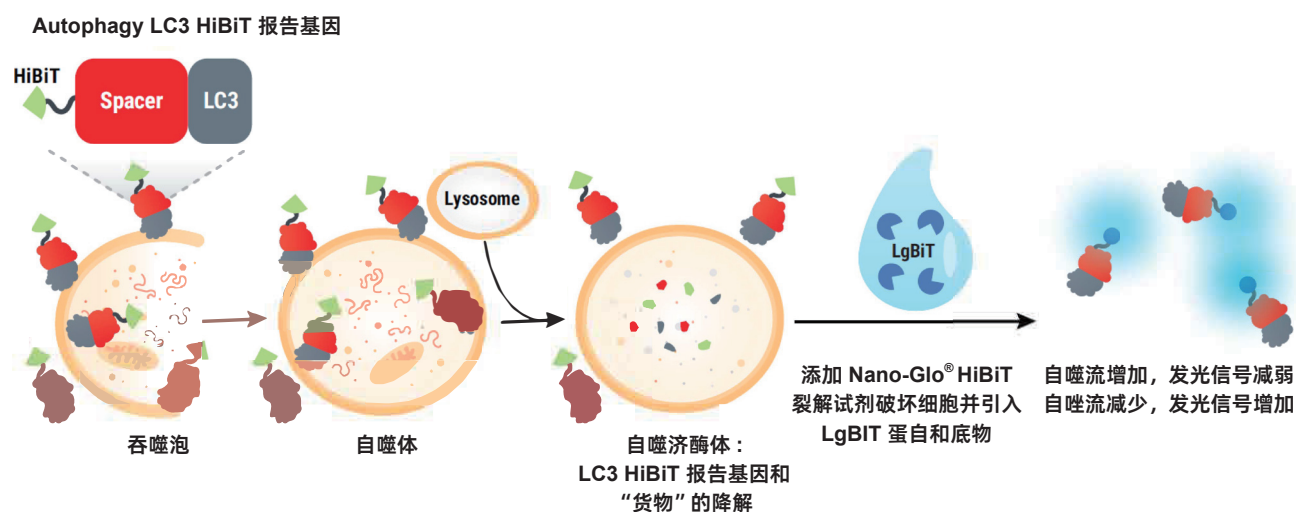
GA1040 | 1each

GA1050 | 1each

Autophagy LC3 HiBiT Reporter Vector 包含与人 LC3 蛋白融合的 HiBiT 标签。在诱导自噬时，部分 LC3 报告蛋白被自噬体捕获并降解。在加入含有 LgBiT 蛋白和底物的 Nano-Glo<sup>®</sup> HiBiT Lytic Reagent 后，LgBiT 与 HiBiT 标签发生相互作用，重新组成明亮发光的 NanoLuc<sup>®</sup> 酶。在多达 7 个数量级的范围内，发光信号与 HiBiT 标记的 LC3 报告蛋白成正比。

该系统可定量且结果明确的 LC3 报告基因检测，简单的加样 - 混合 - 检测操作模式，同时可拓展到高通量应用。提供报告基因稳转细胞系，也提供载体 + 检测试剂。

### 检测原理



### 检测 HEK293 细胞球对自噬刺激剂和抑制剂的反应

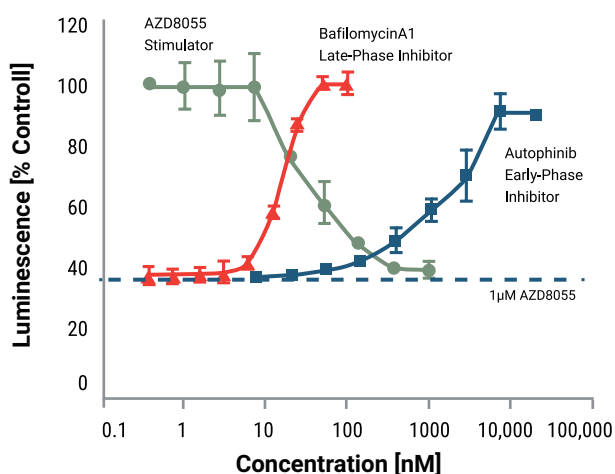


图 .HEK293 细胞球（表达 LC3 HiBiT 报告蛋白）对自噬刺激剂和抑制剂的反应。细胞被接种到 96 孔超低吸附圆底、黑色壁的培养板中，并在实验前培养 4 天。细胞分别用一种自噬刺激剂（AZD8055）或两种不同的自噬抑制剂（Bafilomycin A1 和 Autophinib）进行处理。对于抑制剂研究，首先以 1 $\mu$ mol 的 AZD8055 处理细胞，以降低基础自噬信号，随后再用自噬抑制剂处理 6 小时。向细胞中加入了 Nano-Glo<sup>®</sup> HiBiT 裂解试剂后进行检测。

# 细胞色素 P450 (CYP) 检测

## P450-Glo™ CYP450 Assays

裂解 / 非裂解性检测

生物发光检测

靶标 | 目录号

CYP3A4 | V9001

CYP1A1 | V8751

完整产品详情请联系  
Promega。

该检测系统使用的 P450 发光前体底物是甲虫萤光素 (beetle luciferin) 的衍生物, 甲虫萤光素是萤光素酶的底物。此衍生物本身不是萤光素酶的底物, 但是当 P450 酶将其转化为萤光素时, 即成为萤光素酶底物, 并与萤光素酶反应而产生光, 光强度与 P450 活性成正比。

具有以下优势:

- 均质、性能稳定: 在 96 孔或 384 孔板模式中可实现大于 0.8 的 Z' 值;
- 细胞渗透性底物可用于裂解或非裂解检测形式, 从而节省细胞用于其他用途;
- 发光检测与荧光检测相比, 灵敏的检测需要的酶更少, 动态范围更广, 假阳性率更低。

可检测靶标 (CYPs) 包括: CYP3A4, CYP1A1, CYP1B1, CYP1A2, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP26A1, CYP26B1 (部分产品仅用于生化检测)

### 药物作用下人肝微组织中 CYP3A4 酶活性检测

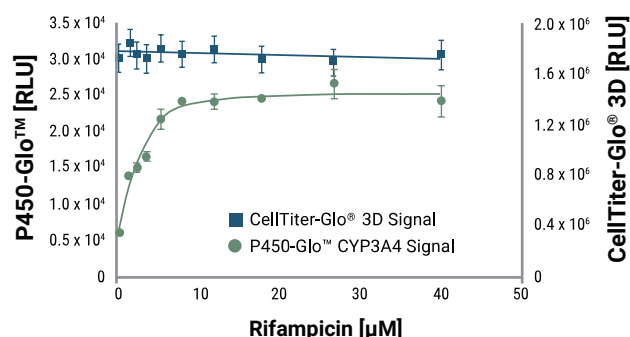


图. 在利福平作用下, 对人肝微组织中 CYP3A4 酶活性及存活能力进行检测。CYP3A4 酶活性通过 P450-Glo™ 3A4 Assay 的非裂解模式进行测定, 随后在同一孔中利用 CellTiter-Glo® 3D Assay 确定细胞的存活状态。

### 适用于常见 3D 培养模型及参考文献

3D 培养模型和基质	细胞类型	参考文献
Bioprinting Liver organoid Matrigel® 生物打印肝类器官	Healthy liver biopsies	Nunez Bernal, P. <i>et al.</i> (2022). Volumetric Bioprinting of Organoids and Optically Tuned Hydrogels to Build Liver-Like Metabolic Biofactories. <i>Adv. Mater.</i> <b>34</b> , 2110054. PMID: <a href="#">35166410</a>
Hepatic spheroid Matrigel® 肝微球体	HepaRG, HUVEC and cord blood mesenchymal stem cells	Ryu, J.-S. <i>et al.</i> (2019) Targeting CYP4A attenuates hepatic steatosis in a novel multicellular organotypic liver model. <i>J. Biol. Eng.</i> <b>13</b> , 69. PMID: <a href="#">31406506</a>
Spheroids 肝微球体	HepG2 cells	Bissoyi, A. <i>et al.</i> (2023). Cryopreservation of Liver Cell Spheroids with Macromolecular Cryoprotectants. <i>ACS Appl. Mater. Interfaces.</i> <b>15</b> , 2,2630-2638. PMID: <a href="#">36621888</a>
Hepatocyte spheroids 肝细胞微球体	HepaRG cells	Ahn, J. <i>et al.</i> (2019) Developing scalable cultivation systems of hepatic spheroids for drug metabolism via genomic and functional analyses. <i>Biotechnol. Bioengin.</i> <b>116</b> , 1496–1508. PMID: <a href="#">30737956</a>
Liver organoid 肝类器官	TkDN-4M hiPSC	Gandhi Torizal, F. <i>et al.</i> (2022). Dialysis based culture medium conditioning improved the generation of human induced pluripotent stem cell derived-liver organoid in a high cell density. <i>Scientific Reports.</i> <b>12</b> , 20774.
Organoid chip 类器官芯片	Liver organoids on-chip	Busek, M., <i>et al.</i> (2023) Pump-less, recirculating organ-on-a-chip (rOoC) platform. <i>Lab Chip</i> <b>23</b> , 591–608. PMID: <a href="#">36655405</a>
Liver Spheroid 肝微球体	NHBE cells	Bovard, D., <i>et al.</i> (2022) Impact of aerosols on liver xenobiotic metabolism: A comparison of two methods of exposure. <i>Toxicology in Vitro</i> <b>9</b> , 105277. PMID: <a href="#">34843886</a>

# 3D 培养模型的细胞代谢检测

## Metabolic Changes in 3D

### 二核苷酸检测

- NADP/NADPH-Glo™ Assay

### 代谢物检测

- Glucose-Glo™ Assay
- Lactate-Glo™ Assay
- Glutamate-Glo™ Assay
- Glutamine/Glutamate-Glo™ Assay
- Triglyceride-Glo™ Assay
- Glycerol-Glo™
- Cholesterol/Cholesterol Ester-Glo™ Assays 等

### 氧化应激检测

- ROS-Glo™ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Assay
- GSH/GSSG-Glo™ Assay

### ICD 生物标志物检测

- RealTime-Glo™ Extracellular ATP Assay

下载完整  
《细胞代谢解决方案》





# 二核苷酸检测

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

裂解性，终点法检测

生物发光检测

目录号 | 规格

G9071 | 10ml

G9072 | 50ml

G9081 | 10ml

G9082 | 50ml

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磷酸 (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。

**3D 培养模型检测步骤：**增加洗涤剂的量，在裂解步骤中延长在裂解缓冲液中的孵育时间。

### NAD/NADH 和 NADP/NADPH 的信号与增大的 3D 微组织直径呈相关性

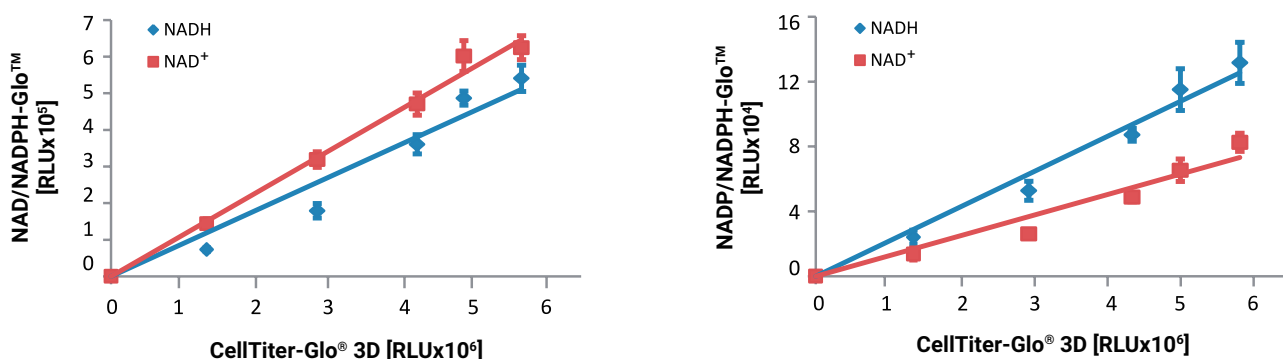


图. 不同数量的 HCT116 细胞被接种到 GravityPLUS™ 96 孔板 (由 InSphero 公司生产) 中, 并培养 4 天。随后, 培养基被移除并用 PBS 替代。通过添加碳酸氢盐缓冲液加上 2% 的 DTAB 并摇晃 30 分钟来裂解微组织。裂解后, 样品体积的一半被转移到白色发光板上, 进行酸处理后检测 NAD+ 或 NADP+; 另一半则经历碱处理后检测 NADH 或 NADPH。中和处理之后, 样品被分隔开并分别使用 NAD/NADH-Glo™ Assay 或 NADP/NADPH-Glo™ Assay 进行检测。与此同时, 作为对照, 平行的孔使用 CellTiter-Glo® 3D 检测试剂进行检测, 因为该检测的信号强度与微组织直径成正比关系。

### 适用于常见 3D 培养模型及参考文献

3D 培养模型和基质	细胞类型	参考文献
Spheroid 类器官	HCT15 and HCT116 cells	Wang, Y-N. <i>et al.</i> (2018) CPT1A mediated fatty acid oxidation promotes colorectal cancer cell metastasis by inhibiting anoikis. <i>Oncogene</i> <b>37</b> , 6025–6040. PMID:29995871 (NADP/NADPH-Glo™)
Human-derived organoids and mouse-derived organoids 类器官	patient-derived cancer cells	Chan, K. <i>et al.</i> (2019) eIF4A supports an oncogenic translation program in pancreatic ductal adenocarcinoma. <i>Nat. Commun.</i> <b>10</b> , 5151. PMID:31723131 (NADP/NADPH-Glo™)
GF reduced Matrigel® 水凝胶	Mouse myoblasts	Bell, E.L. <i>et al.</i> (2019) PPARδ modulation rescues mitochondrial fatty acid oxidation defects in the mdx model of muscular dystrophy. <i>Mitochondrion</i> <b>46</b> , 51–58. PMID:29458111 (NAD/NADH-Glo™)

# 代谢物检测

## Metabolite Assays

裂解性或非裂解性

生物发光检测

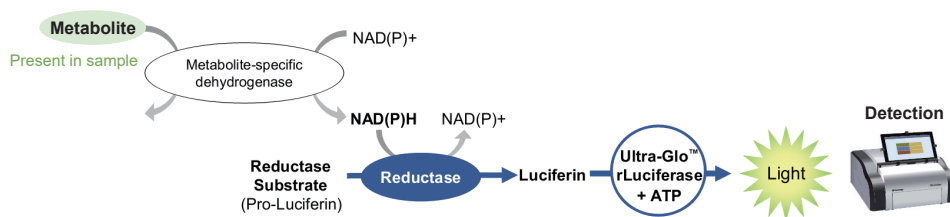
产品目录号及规格  
见最后手册最后  
订购信息

Promega 提供基于多孔板的生物发光法细胞代谢物检测方法，可用于糖代谢、脂代谢、氨基酸代谢等检测，助力监测肿瘤和免疫细胞代谢的变化以及代谢性疾病的基础研究及药物发现。

具有以下优势：

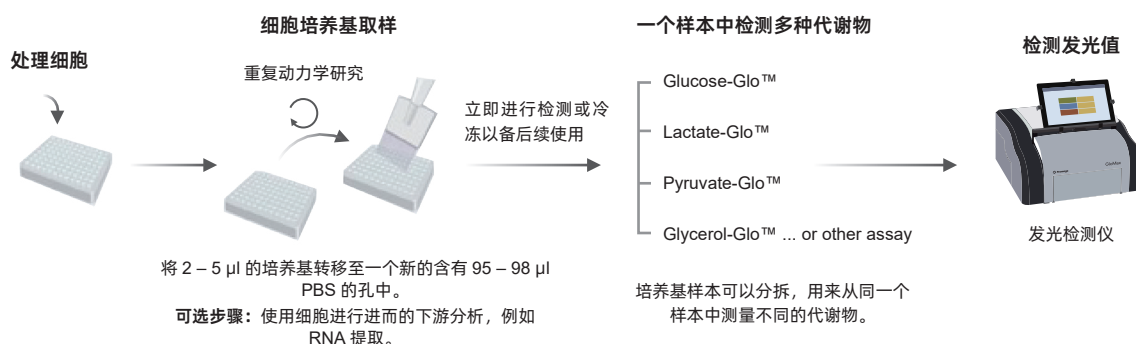
- 操作简单，非常适用于高通量检测，可拓展至 1536 孔版；
- 生物发光法与荧光和吸光法相比，灵敏度高，所需起始细胞数少；
- 可采用非裂解性方法，适用于多种样本类型，包括难裂解的 3D 样本，如类器官等。

### 代谢物检测原理



该方法利用酶偶联，代谢物和其特异性脱氢酶反应，将 NAD(P)<sup>+</sup> 还原成 NAD(P)H，存在 NAD(P)H 时，还原酶将萤光素前体 Reductase Substrate 还原为萤光素。萤光素通过 Ultra-Glo™ rLuciferase 催化定量，反应产生的光信号与样品中代谢物的量成正比，通过发光检测仪进行检测。（丙酮酸检测采用基于 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的生物发光法检测）

### 3D 培养模型检测步骤



### 可进行 3D 模型检测的代谢标记物（目录号见最后一页）

糖代谢	氨基酸代谢	脂代谢
Glucose-Glo™	Glutamate-Glo™	Glycerol-Glo™
Lactate-Glo™	Glutamine/Glutamate-Glo™	BHB-Glo™
Pyruvate-Glo™	BCAA-Glo™	Triglyceride-Glo™
		Cholesterol/Cholesterol Ester-Glo™

没有找到我需要检测的靶标？使用定制检测系统！

- Metabolite-Glo™ Detection System 用户提供特异性脱氢酶，可自行 DIY 定制代谢物检测系统。
- Dehydrogenase-Glo™ Detection System 用户提供特异性代谢物，可自行 DIY 定制脱氢酶检测系统。

## 人肝脏球状体中胰岛素介导的糖异生抑制作用检测

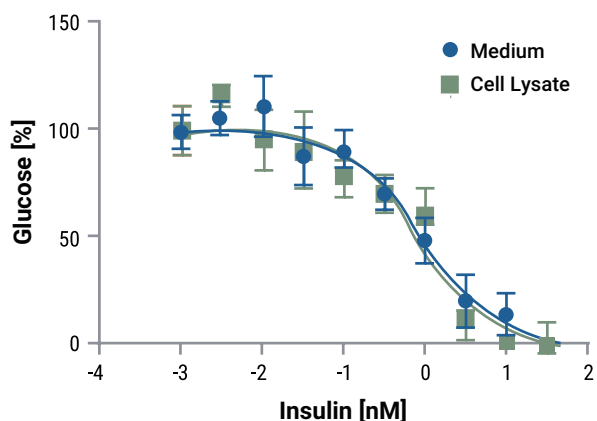


图. iCell® Hepatocytes 2.0 (Cellular Dynamics, Inc. 公司生产) 以球状体形式培养, 在无葡萄糖的糖异生培养基中培养 1.5h, 以促进肝糖原生成。细胞经洗涤后, 培养基更换为含不同浓度胰岛素的 50 $\mu$ l 糖异生培养基, 并继续孵育 6h。从每个孔中移出一半的培养基, 并将其与等体积的葡萄糖检测试剂混合。60 分钟后, 使用 GloMax® Discover Instrument 测量发光 (蓝色, 培养液)。剩余的细胞及培养基 (25 $\mu$ l) 通过添加 12.5 $\mu$ l 的失活溶液 (振荡 5 分钟) 并用 12.5 $\mu$ l 的中和溶液中和, 接着加入 50 $\mu$ l 的葡萄糖检测试剂测定细胞内葡萄糖含量 (黄色; 细胞裂解物)。

## 不同条件下培养的人肝脏微组织中的甘油三酯水平检测

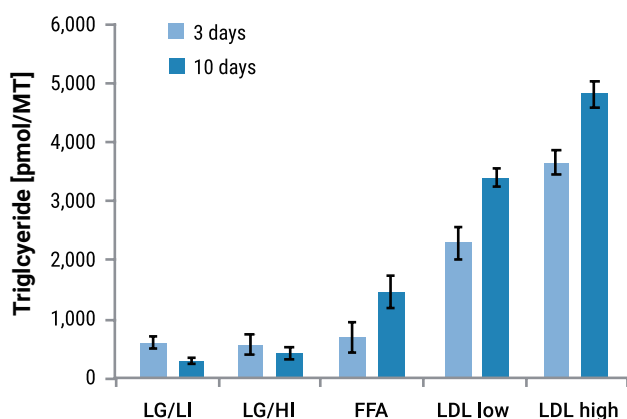


图. 使用 3D InSight™ 技术 (InSphero 公司提供) 的人类肝脏微组织在无血清培养基中孵育指定天数, 培养基分别含有生理浓度 (LG/LI) 或超生理浓度 (LG/HI) 的葡萄糖和胰岛素, 并且添加了要么是与牛血清白蛋白 (BSA) 结合的游离脂肪酸 (FFA), 要么是低密度脂蛋白血浆组分 (LDL)。利用 Triglyceride-Glo™ Assay 检测甘油三酯水平。

## 适用于常见 3D 培养模型及参考文献

3D 培养模型和基质	细胞类型	参考文献
Spheroid 微球体	breast and prostate cancer stem cell	Deshmukh, A., Arfuso, F., Newsholme, P., and Dharmarajan, A. (2018) Regulation of cancer stem cell metabolism by secreted Frizzled- Related Protein 4 (sFRP4). <i>Cancers</i> 10, 40. PMID: <a href="#">29385093</a> ( <a href="#">Glutamine/Glutamate-Glo™</a> )
Spheroid 微球体	A549, HCT116, HEPG2 etc.	Peirsman, A., <i>et al.</i> (2021) MISpheroid: a knowledgebase and transparency tool for minimum information in spheroid identity. <i>Nat. Methods</i> 18, 1294–1303. PMID: <a href="#">34725485</a> ( <a href="#">Glucose-Glo™</a> Assay, <a href="#">Lactate-Glo™</a> Assay)
Forebrain organoid 脑类器官	pluripotent stem cell (iPSC)	Bauersachs, H.G., <i>et al.</i> (2022) N-methyl-d-aspartate receptor-mediated preconditioning mitigates excitotoxicity in human induced pluripotent stem cell-derived brain organoids. <i>Neuroscience</i> 484, 83–97. PMID: <a href="#">34958875</a> ( <a href="#">Glutamate-Glo™</a> Assay)
Liver microtissue(hLiMT) 肝微组织	-	Ströbel, S., <i>et al.</i> (2021) A 3D primary human cell-based in vitro model of non-alcoholic steatohepatitis for efficacy testing of clinical drug candidates. <i>Sci Rep</i> 11, 22765. PMID: <a href="#">34815444</a> ( <a href="#">Triglyceride-Glo™</a> Assay)

# ROS 水平检测

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

裂解 / 非裂解性检测

生物发光检测

目录号 | 规格

G8820 | 10ml

G8821 | 50ml

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，荧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> 反应生成荧光素前体。加入 ROS-Glo™ Detection Solution 后，荧光素前体转换为荧光素，经溶液中的 Ultra-Glo™ 重组荧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。

- 兼容多种细胞培养基（有 / 无血清均可），无需提前去除培养基，可在细胞及酶学反应两种模式下筛选化合物；
- 均质检测，步骤简单，仅需两步试剂加入操作；
- 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。

### 化合物处理后细胞球 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 水平检测

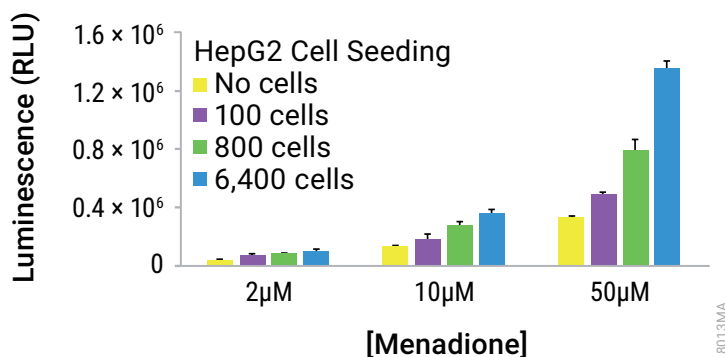


图. 用 ROS 诱导剂甲萘醌处理后的 HepG2 细胞球培养中 ROS-Glo™ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 检测试剂的信号。HepG2 细胞被接种在超低吸附 (ULA) 板中，每孔分别接种 100、800 和 6400 个细胞，培养 4 天。微组织被转移到白色壁的检测板中，每孔加入 25 µL 培养基，并用甲萘醌加上 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 底物进行处理。细胞先与甲萘醌共孵育 2 小时，之后加入 ROS-Glo™ 检测试剂 (n=3, n 表示实验重复次数)。

### 适用于常见 3D 培养模型及参考文献

3D 培养模型和基质	细胞类型	参考文献
Spheroid 微球体	cancer-associated fibroblasts	Chang, A.-Y. <i>et al.</i> (2019) Evaluation of tumor cell-tumor microenvironment component interactions as potential predictors of patient response to napabucasin. <i>Mol. Cancer Res.</i> <b>17</b> , 1429–1434. PMID: <a href="#">31043490</a>
Embryoid body spheroid 微球体	hESC line, H7	Guo, H. <i>et al.</i> (2019) Single-cell RNA sequencing of human embryonic stem cell differentiation delineates adverse effects of nicotine on embryonic development. <i>Stem Cell Rep.</i> <b>12</b> , 772–786. PMID: <a href="#">30827876</a>
Spheroid 微球体	human iPSC cardiomyocytes, cardiac fibroblasts and cardiac endothelial cells	Tomlinson, L. <i>et al.</i> (2019) Attenuation of doxorubicin-induced cardiotoxicity in a human in vitro cardiac model by the induction of the NRF-2 pathway. <i>Biomed. Pharmacother.</i> <b>112</b> , 108637. PMID: <a href="#">30798127</a>
Spheroid 微球体	STK11KO and NUA1KO cell lines	Buensuceso, A., <i>et al.</i> (2022) Loss of LKB1-NUAK1 signalling enhances NF-κB activity in a spheroid model of high-grade serous ovarian cancer. <i>Sci. Rep.</i> <b>12</b> , 3011. PMID: <a href="#">35194062</a>

# 谷胱甘肽水平检测

## GSH/GSSG-Glo™ Assay

裂解性，终点法检测

生物发光检测

目录号 | 规格

V6911 | 10ml

V6912 | 50m

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。

### 3D 培养模型检测步骤

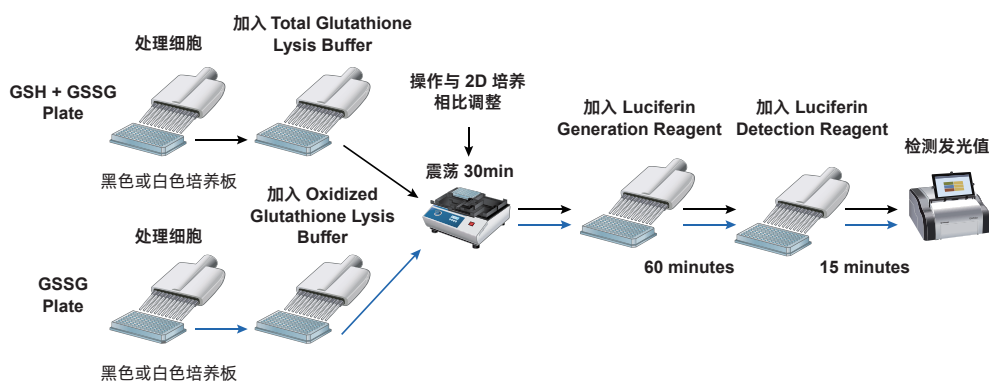


图. GSH/GSSG-Glo™ Assay 的操作步骤。要将标准 2D 单层培养改成 3D 培养，只需将平板振荡器上的裂解阶段时间延长至 30 分钟。

### 化合物处理后细胞球谷胱甘肽水平检测

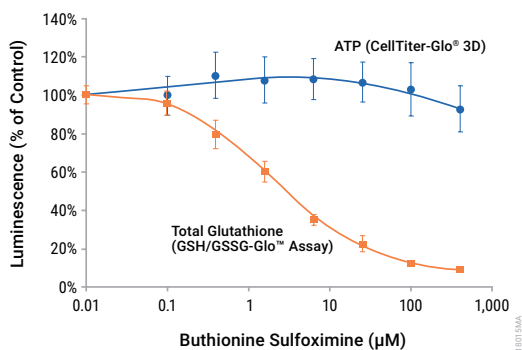


图. 监测用谷胱甘肽合成酶抑制剂丁硫氨酸磺氧化物处理的 HCT116 细胞球中总谷胱甘肽水平和细胞存活能力。准备了两组相同的细胞球（约 350 微米），并用不同浓度的 buthionine sulfoximine 进行处理。一组通过 CellTiter-Glo® 3D Cell Viability Assay 评估细胞存活能力，另一组则利用 GSH/GSSG-Glo® Assay 检测总谷胱甘肽含量。

### 适用于常见 3D 培养模型及参考文献

3D 培养模型和基质	细胞类型	参考文献
Spheroid, ULA 微球体	MDA-MB-468 human breast cancer cells	Park, J.Y. <i>et al.</i> (2019) Silent mating-type information regulation 2 homolog 1 overexpression is an important strategy for the survival of adapted suspension tumor cells. <i>Cancer Sci.</i> <b>110</b> , 2773–2782. PMID: <a href="#">31348594</a>
Colon cancer spheroid 微球体	Lenti-X 293T and HCT116	Ohata, H. <i>et al.</i> (2019) NOX1- dependent mTORC1 activation via S100A9 oxidation in cancer stem-like cells leads to colon cancer progression. <i>Cell Rep.</i> <b>28</b> , 1282– 1295. PMID: <a href="#">31365870</a>
Agarose hydrogel 水凝胶	equine mesenchymal stem cells	Tangtrongsup, S. and Kisiday, J.D. (2018) Modulating the oxidative environment during mesenchymal stem cells chondrogenesis with serum increases collagen accumulation in agarose culture. <i>J. Ortho. Res.</i> <b>36</b> , 506–514. PMID: <a href="#">28548680</a>

# 胞外 ATP (eATP) 检测

## RealTime-Glo™ Extracellular ATP Assay

非裂解性实时检测

无需吸取上清

目录号 | 规格

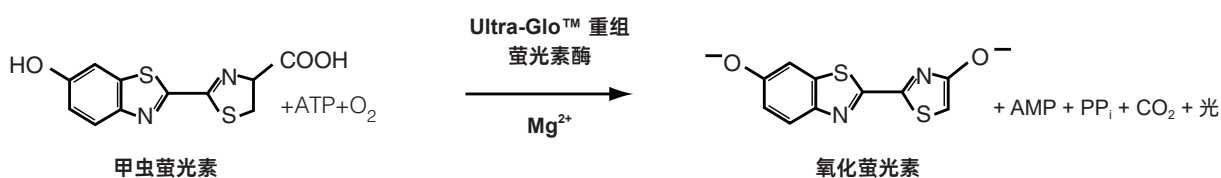
GA5010 | 200 assays

GA5011 | 2000 assays

GA5012 | 10x200 assays

eATP 作为免疫原性细胞死亡 (ICD) 的生物标志物，传统方法需要吸取不含细胞的培养基上清检测。RealTime-Glo™ Extracellular ATP Assay 提供一种胞外 ATP 检测底物，使用您偏好的细胞培养液溶解检测底物，得到非裂解性的均质检测试剂。试剂在给药或处理的时候直接加入培养的细胞中。释放的 ATP 与试剂中的 Ultra-Glo™ 萤光素酶反应产生光信号，以评估在长达 24 小时的刺激暴露过程中持续的 ATP 释放情况。

### 检测原理



1398MD03\_6A

### 在 3D 细胞培养模型中检测免疫原性细胞死亡

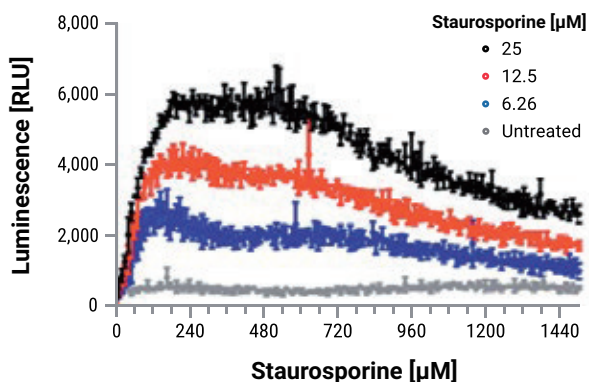


图. HCT-116 细胞在超低吸附板中生长形成球状体。细胞经 Staurosporine 梯度稀释处理后，加入 RealTime-Glo™ Extracellular ATP 检测试剂，然后监测信号变化。

## 其他适用于 3D 培养模型的检测

- 分泌型指标检测 (Lumit™ 免疫检测)
- RNA 提取系统
- qPCR 检测系统
- 多功能检测仪

下载完整《Lumit 免疫  
检测技术解决方案》



# 简单、快速的分析物检测方法

## Lumit<sup>®</sup> Immunoassays

无需洗涤和孵育

操作简单

目录号 | 规格

W8020 | 100-400 assays

W8022 | 500-2000 assays

Lumit 免疫检测技术，可以用于 3D 细胞培养模型中分泌型指标的检测。Lumit<sup>™</sup> 免疫检测的基本原理是，一对特异性识别同一待测分析物不同表位的抗体，分别用 NanoLuc<sup>®</sup> 萤光素酶的大小亚基 (LgBiT 和 SmBiT) 进行化学标记。在待测分析物存在的情况下，两种抗体会非常接近，从而使 SmBiT 和 LgBiT 形成有活性的 NanoBiT<sup>®</sup> 酶并催化试剂中的底物产生明亮的发光信号。

### 预构建的检测系统

- 细胞因子检测
- DAMP 检测
- Fc 受体结合
- SARS-CoV-2 中和
- 代谢检测

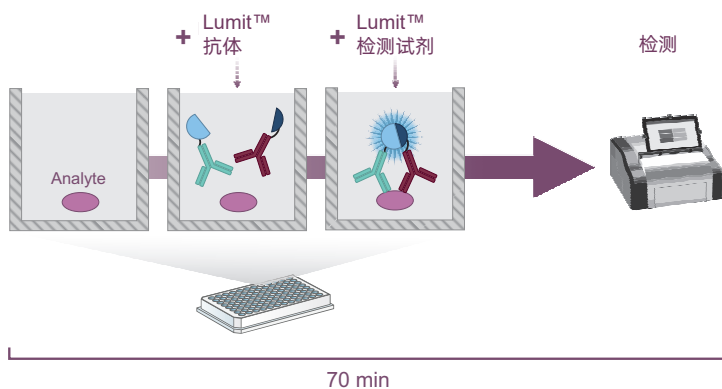
### 预验证的检测系统

- 信号通路监测

### 预验证的检测系统

- Labeling Kits
- Pre-labeled Antibodies
- Detection Reagents

### 检测流程



### 技术优势

- 简单的加样 - 读数流程，无需洗涤步骤
- 减少手动时间，快速出结果
- 无需对孔板、磁珠、或者其他表面物质进行固定
- 直接在细胞培养板中检测分析物
- 灵敏的发光检测，动态范围宽
- 常规的发光仪即可进行检测
- 特异性高，背景信号低
- 容易进行自动化处理，以及兼容高通量 (96 孔和 384 孔板)

### 定量检测小鼠胰岛分泌的 Insulin 与 Glucagon

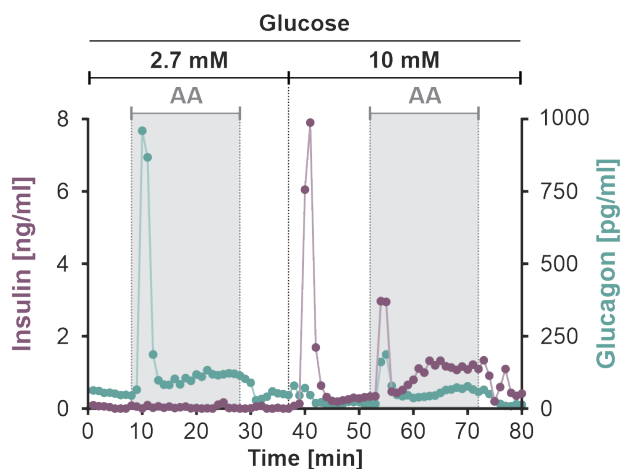


图. 在小鼠胰岛灌注实验中每分钟收集一份样品，用对应试剂测量胰岛素和胰高血糖素分泌。因为是对同一样品中两种激素进行分析，因此可叠加两个数据集，得到全面的处理后激素水平动态变化图像。(数据由合作机构友情提供)



# RNA 提取系统

## ReliaPrep™ RNA Miniprep Systems

30 分钟完成

获得高纯度产物

目录号 | 规格

Z6010 | 10 preps

Z6110 | 10 preps

ReliaPrep™ RNA Miniprep System 为从培养细胞中制备完整的总 RNA 提供了一个快速、简单的方法，仅需短短 30 分钟就可完成细胞总 RNA 提取。专用纯化柱 / 结合基质可从极少的样本中高效捕获 RNA，分离出的 RNA 可用最小体积洗脱（小于 15μl）。使用这种以膜为基础的纯化系统，每个纯化柱可纯化 100 个至 5×10<sup>6</sup> 个细胞或 0.25 -20mg 组织。该系统直接将 DNase 处理步骤整合到了柱膜上，可有效去除可能抑制下游实验的物质。纯化过程中不使用苯酚 - 氯仿抽提或乙醇沉淀，从而获得高纯度 RNA，不需要额外的纯化或浓缩，可直接用于下游应用。

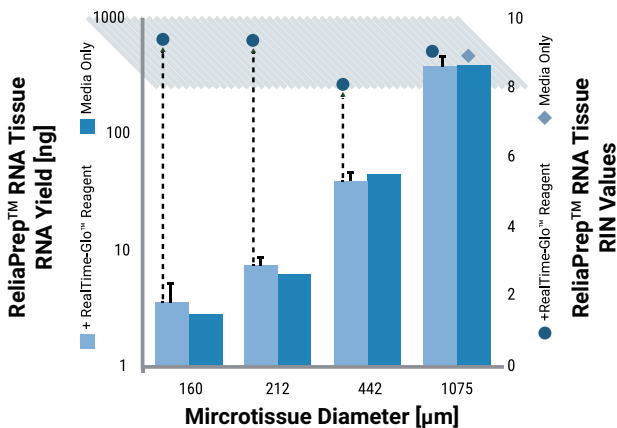


图 . 在 RealTime-Glo™ MT Cell Viability Assay 检测后的 RNA 提取。首先使用 RealTime-Glo™ MT Cell Viability Assay 检测不同大小的 HEK293 细胞球体的存活率（未显示），随后采用相同的样本通过 ReliaPrep™ RNA Tissue Miniprep System 进行 RNA 提取。RealTime-Glo™ 试剂的存在对 RNA 的产量或质量（RIN 值）没有影响。

# qPCR 系统

## GoTaq® qPCR Family

专利染料

性能强劲

目录号 | 规格

A6001 | 500×20ul reactions

A6100 | 100 reactions

GoTaq® qPCR Master Mix 是用于实时定量 PCR (qPCR 和 RT-qPCR) 的即用型 2X 预混液。该试剂系统包含 BRYTGreen® 染料 (BRYT Green® dye), 相比于 SYBR® Green I, 这种新型荧光 DNA 结合染料与双链 DNA(dsDNA) 结合后, 对 PCR 抑制最小、PCR 效率更高、荧光强度更强。GoTaq® qPCR Master Mix 结合了 GoTaq® 热启动聚合酶、优化的缓冲液及专利的荧光染料, 更早获得 Ct 值, 检测范围更广, 从而有效提高实时定量 PCR 的可靠性、重复性和灵敏度。

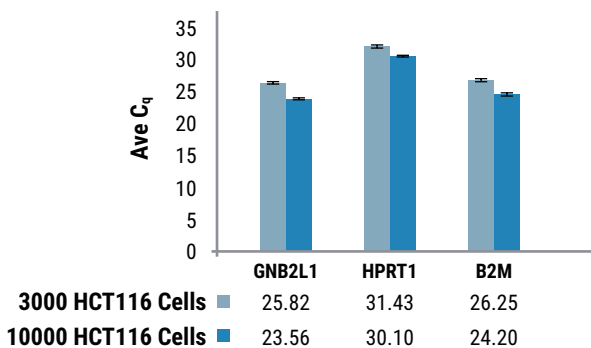


图 . 使用 GoTaq® 1-Step RT-qPCR 对 3D 微组织进行检测。HCT116 细胞以两种不同的密度接种于 GravityPLUS™ 悬浮 96 孔板中以形成球状体。通过使用 GoTaq® 1-Step RT-qPCR System 观察三个基因 (GNB2L1、HPRT1 和 B2M) 的基因表达水平来评估纯化的 RNA。GoTaq® System 成功地从使用 ReliaPrep™ RNA Cell Miniprep System 纯化的、来自两种不同微组织密度的 RNA 中检测到了这三个基因。

# GloMax<sup>®</sup> Discover 多功能检测仪

目录号 | 规格

GloMax<sup>®</sup> Discover System | GM3000

GloMax<sup>®</sup> Discover 多功能检测仪是 Promega 推出的新型多功能读板仪。制作工艺精良，性能出众，拥有发光，荧光及比色等多种检测功能。

## 使用简单

直观的触摸显示屏和预置程序使您方便简单的得到数据和分析结果。

## 整合检测

经过优化的，预置的 Promega 程序是 GloMax<sup>®</sup> 系统软件的一部分，减少您优化仪器设置的时间。

## 灵活

可根据需要定制滤片。可放置于实验台上或整合进大的自动化平台以实现高通量。

## 优异的性能

更宽的动态范围使您在同一次试验中检测高值和低值样品，更高的灵敏度适于检测低水平样品，更低的孔间干扰。

## 专业的服务

提供的保修服务和专业的售后团队为您解答仪器或试剂的相关问题。同时提供其他的服务产品，如 Installation and Operation Qualification (IQ/OQ)。



# 产品订购信息

## Product information

### 细胞健康检测

产品名称	目录号   规格
CellTiter-Glo <sup>®</sup> 3D Cell Viability Assay	G9681   10ml G9682   10X10ml G9683   100ml
RealTime-Glo <sup>™</sup> MT Cell Viability Assay	G9711   100 assays G9712   10x100 assays G9713   1,000 assays
RealTime-Glo <sup>™</sup> Annexin V Apoptosis and Necrosis Assay	JA1011   100 assays JA1012   1,000 assays
Caspase-Glo <sup>®</sup> 3/7 Assay	G8090   2.5ml G8091   10ml G8092   100ml G8093   10x10ml
Caspase-Glo <sup>®</sup> 3/7 3D Assay	G8981   10ml G8982   100ml G8983   10x10ml
LDH-Glo <sup>™</sup> Cytotoxicity Assay	J2380   10ml J2381   50ml
CellTox <sup>™</sup> Green Cytotoxicity Assay	G8741   10 ml G8742   50 ml G8743   100 ml
RealTime-Glo <sup>™</sup> Extracellular ATP Assay	GA5010   200 assays GA5011   2000 assays GA5012   10x200 assays
Autophagy LC3 HiBiT Reporter Vector	GA2550   1each
HEK293 Autophagy LC3 HiBiT Reporter Cell Line	GA1040   1each
U2OS Autophagy LC3 HiBiT Reporter Cell Line	GA1050   1each

### 基因表达等其他检测系统

产品名称	目录号   规格
ReliaPrep <sup>™</sup> RNA Cell Miniprep System	Z6010   10 preps Z6011   50 preps Z6012   250 preps
ReliaPrep <sup>™</sup> RNA Tissue Miniprep System	Z6110   10 preps Z6111   50 preps Z6112   250preps
GoTaq <sup>®</sup> qPCR Master Mix	A6001   500x20ul reactions A6002   2500x20ul reactions
GoTaq <sup>®</sup> Probe qPCR Master Mix	A6100   100 reactions A6101   200 reactions A6102   1,000 reactions
GoTaq <sup>®</sup> Probe 1-Step RT-qPCR System	A6120   200 reactions A6121   1,250 reactions
Lumit <sup>™</sup> Glucagon Immunoassay	W8020   100-400 assays W8022   500-2000 assays
GloMax <sup>®</sup> Discover System	GM3000

### 能量代谢检测

产品名称	目录号   规格
NAD/NADH-Glo <sup>™</sup> Assay	G9071   10ml G9072   50ml
NADP/NADPH-Glo <sup>™</sup> Assay	G9081   10ml G9082   50ml
Glucose-Glo <sup>™</sup> Assay	J6021   5ml J6022   50ml
Lactate-Glo <sup>™</sup> Assay	J5021   5ml J5022   50ml
Glutamine/ Glutamate-Glo <sup>™</sup> Assay	J8021   5ml J8022   50ml
Glutamate-Glo <sup>™</sup> Assay	J7021   5ml J7022   50ml
Malate-Glo <sup>™</sup> Assay	JE9100   5ml JE9200   50ml
BCAA-Glo <sup>™</sup> Assay	JE9300   5ml JE9400   50ml
Glycogen-Glo <sup>™</sup> Assay	JE9300   5ml JE9400   50ml
Pyruvate-Glo <sup>™</sup> Assay	J4051   5ml J4052   50ml
BHB-Glo <sup>™</sup> (Ketone Body) Assay	JE9500   5ml JE9600   50ml
Glycerol-Glo <sup>™</sup> Assay	J3150   5ml J3151   50ml
Triglyceride-Glo <sup>™</sup> Assay	J3160   5ml J3161   50ml
Cholesterol/Cholesterol Ester-Glo <sup>™</sup> Assay	J3190   5ml J3191   50ml
ROS-Glo <sup>™</sup> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Assay	G8820   10ml G8821   50ml
GSH/GSSG-Glo <sup>™</sup> Assay	V6911   10ml V6912   50ml
Dehydrogenase-Glo <sup>™</sup> Detection System	J9010   5ml J9020   50ml
Metabolite-Glo <sup>™</sup> Detection System	J9030   5ml J9040   50ml

更多产品信息请联系 Promega。

# 3D 培养模型检测解决方案

<https://www.promega.com.cn/applications/3d-assays-and-tools-to-monitor-cell-biology/>



关注 Promega 生命科学公众号，您可获得



产品信息



价格查询



中文说明书



讲座视频



技术资料



实验工具



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：400 810 8133

技术支持邮箱：chinatechserv@promega.com

更新时间：2024.05