

细胞代谢检测解决方案

Cell Metabolism

高灵敏度 快速 高通量



Content 目 录

1. 产品及性能概览 3

- 细胞代谢检测系统 / 生物发光法的优势
- Promega 细胞代谢检测解决方案
- 细胞代谢检测系统性能 / 原理
- DIY 定制检测系统
- 金牌技术 - 细胞活力检测系统
- 金牌技术 - 细胞毒性检测系统

2. 脂代谢检测 12

- 脂代谢检测全线产品介绍
- 甘油三酯检测

3. 糖代谢与氨基酸代谢检测 17

- 糖、氨基酸代谢检测全线产品介绍
- 葡萄糖摄取检测
- 糖原检测
- 胰岛素与胰高血糖素检测
- 支链氨基酸检测

4. 核苷酸和辅因子检测产品介绍 26

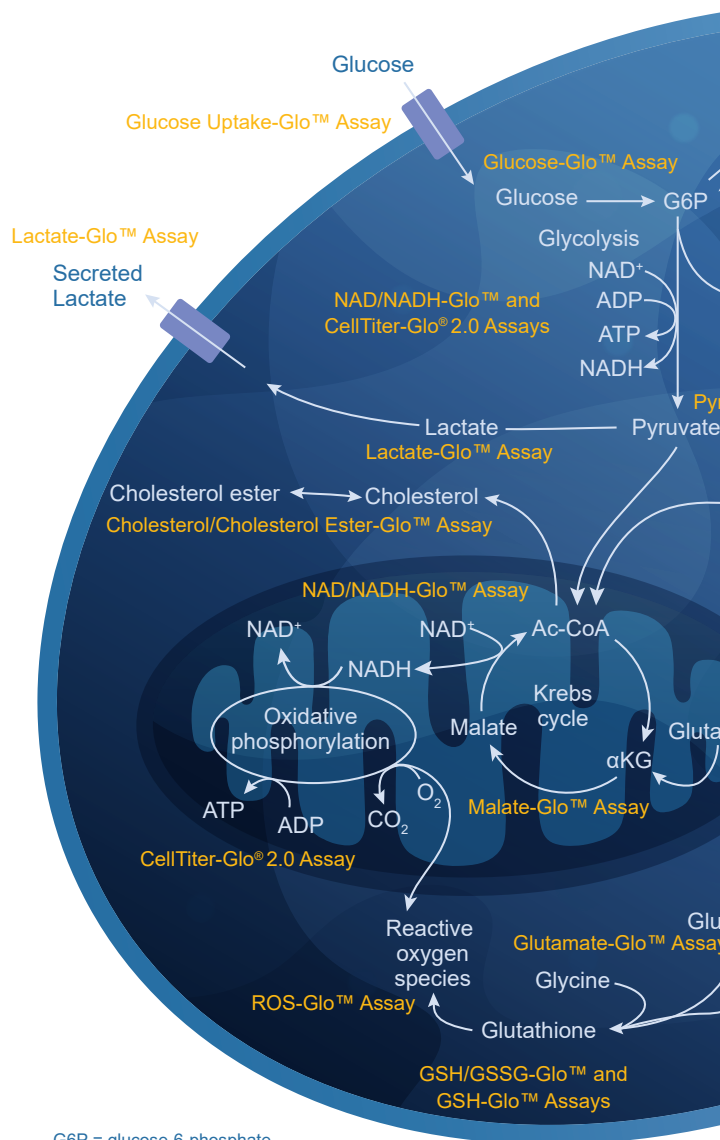
- NAD/NADH, NADP/NADPH 检测
- NADH、NADPH 检测

5. 氧化应激分析 31

- 谷胱甘肽检测
- ROS 检测

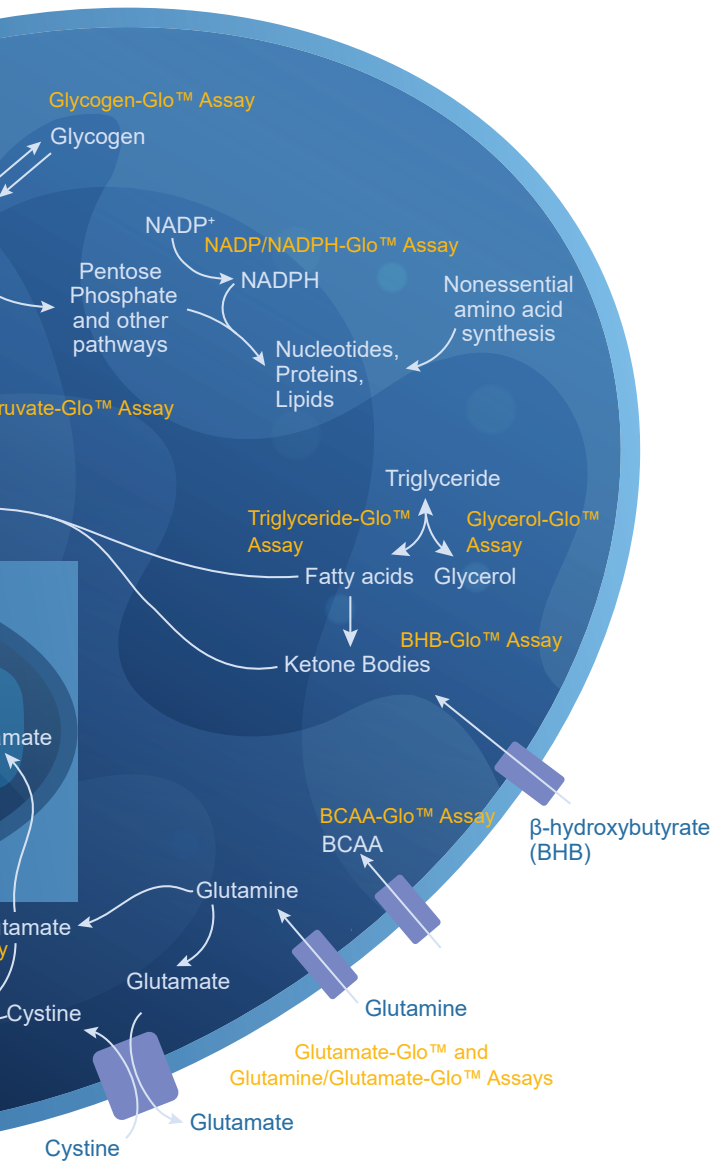
6. 线粒体功能检测 36

- 线粒体功能检测
- 苹果酸检测
- 丙酮酸检测



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

细胞代谢



肿瘤代谢

- 肿瘤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。



免疫代谢

- 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。



代谢疾病

- 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。

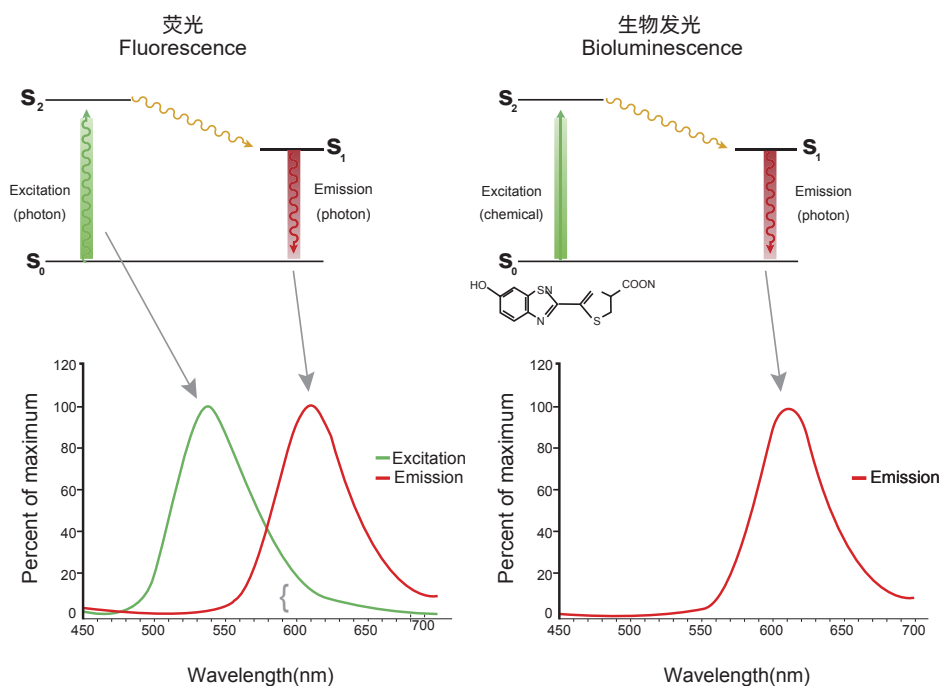
细胞代谢检测系统优势

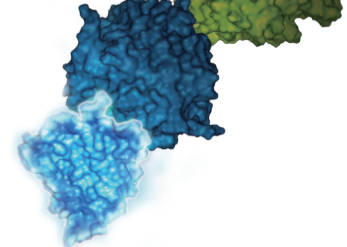
- 1 操作简单** 无需细胞收集和离心
- 2 多种样本** 适用于多种样本类型，包括难裂解的 3D 样本类型
- 3 仪器兼容** 无需特殊仪器，只需具有发光检测功能的多功能检测仪
- 4 高通量** 基于多孔板的检测试剂盒，可拓展到 96/384/1536 孔板
- 5 高灵敏度** 生物发光法，灵敏度显著高于吸光或荧光法，只需很少的起始细胞

生物发光法的优势

Promega 大部分细胞代谢检测试剂盒都是基于生物发光法，其优势如下：

- **无需激发：**不同于荧光，生物发光依靠基于萤光素酶与底物的酶学反应产生自发光，无需激发光；
- **背景低，灵敏度高：**无激发光造成的背景，灵敏度更高，比荧光灵敏度高 100 倍；
- **不受化合物自发荧光干扰：**待测化合物经常会产生自发荧光，从而对基于荧光法的检测造成干扰，生物发光法则避免了这个问题，更加适合作为细胞学分析手段。





Promega 细胞代谢检测解决方案

可以提供以下细胞代谢靶标检测试剂盒：

糖代谢	氨基酸代谢	脂代谢	氧化应激	线粒体功能	辅因子
葡萄糖摄取 Glucose Uptake (2DG6P)	谷氨酰胺 Glutamine	甘油三酯 Triglyceride	谷胱甘肽 GSH	ATP	NAD/NADH
葡萄糖 Glucose	谷氨酸 Glutamate	甘油 Glycerol	谷胱甘肽 / 氧化型谷胱甘肽 GSH/GSSG ratio	苹果酸 Malate	NADP/NADPH
乳酸 Lactate	支链氨基酸 BCAA	胆固醇 Cholesterol	活性氧 H ₂ O ₂	丙酮酸 Pyruvate	NAD(P)H
糖原 Glycogen		胆固醇酯 Cholesterol Ester			
胰高血糖素 Glucagon		β- 羟基丁酸 BHB(Ketone Body)			
胰岛素 Insulin					

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。

GloMax™ Discover 多功能读板仪

与 Promega 高灵敏度发光检测试剂
组成完整细胞代谢检测解决方案



细胞代谢检测系统性能

	检测标志物	样本类型	检测通量	线性范围	时间	产品	目录号 规格
糖代谢	葡萄糖摄取 2-deoxyglucose (2DG)	哺乳动物细胞	96/384	0.5-30 μ M	0.5-5 小时	Glucose Uptake-Glo™ Assay	J1341 5ml J1342 10ml J1343 50ml
	葡萄糖 Glucose	3D 细胞、裂解物、组织、 血浆 / 血清	96/384	<50 μ M S/B max > 1000	1 小时	Glucose-Glo™ Assay	J6021 5ml J6022 50ml
	L- 乳酸 Lactate	3D 细胞、裂解物、组 织匀浆, 血浆 / 血清	96/384	<200 μ M S/B max > 200	1 小时	Lactate-Glo™ Assay	J5021 5ml J5022 50ml
	糖原 Glycogen	NEW 3D 组织匀浆, 细胞, 血浆 / 血清	96/384	20ng-20 μ g/ml S/B max > 150	1 小时	Glycogen-Glo™ Assay	J5051 5ml J5052 50ml
	胰高血糖素 Glucagon	细胞系或胰岛	96/384	1pM-2nM S/B max ~500	70 分钟	Lumit™ Glucagon Immunoassays	W8020 100-400assays W8022 500-2000assays
氨基酸代谢	谷氨酰胺 Glutamin/ Glutamate	3D 细胞、裂解物、组织、 血浆 / 血清	96/384	~25-50nM S/B max > 300	1 小时	Glutamine/ Glutamate- Glo™ Assay	J8021 5ml J8022 50ml
	谷氨酸 Glutamate	3D 细胞、裂解物、组织、 血浆 / 血清	96/384	5nM-50 μ M S/B max > 100	1 小时	Glutamate- Glo™ Assay	J7021 5ml J7022 50ml
	支链氨基酸 BCAA	NEW 3D 哺乳动物细胞、细 胞培养基、血浆 / 血清、 细胞裂解物、组织匀浆	96/384	50nM-25 μ M S/B max > 300	—	BCAA-Glo™ Assay	JE9300 5ml JE9400 50ml
脂代谢	甘油 Glycerol	3D 细胞、细胞培养基、 组织匀浆, 血清	96/384	0.1-80 μ M 1-5pmole/sample	<2 小时	Glycerol-Glo™ Assay	J3150 5ml J3151 50ml
	甘油三酯 Triglyceride	3D 细胞、细胞培养基、 组织匀浆, 血清	96/384	0.1-80 μ M 1-5pmole/sample	<2 小时	Triglyceride- Glo™ Assay	J3160 5ml J3161 50ml
	胆固醇 / 胆固醇酯 Cholesterol and cholesterol esters	3D 细胞、细胞培养基、 组织匀浆, 血清	96/384	0.1-80 μ M 1-5pmole/sample	<2 小时	Cholesterol/ Cholesterol Ester-Glo™ Assay	J3190 5ml J3191 50ml
	β - 羟基丁酸 BHB	NEW 3D 哺乳动物细胞、细 胞培养基、组织, 血浆 / 血清	96/384	50nM -25 μ M S/B max > 150	<2 小时	BHB-Glo™ (Ketone Body) Assay	JE9500 5ml JE9600 50ml

细胞代谢检测系统性能

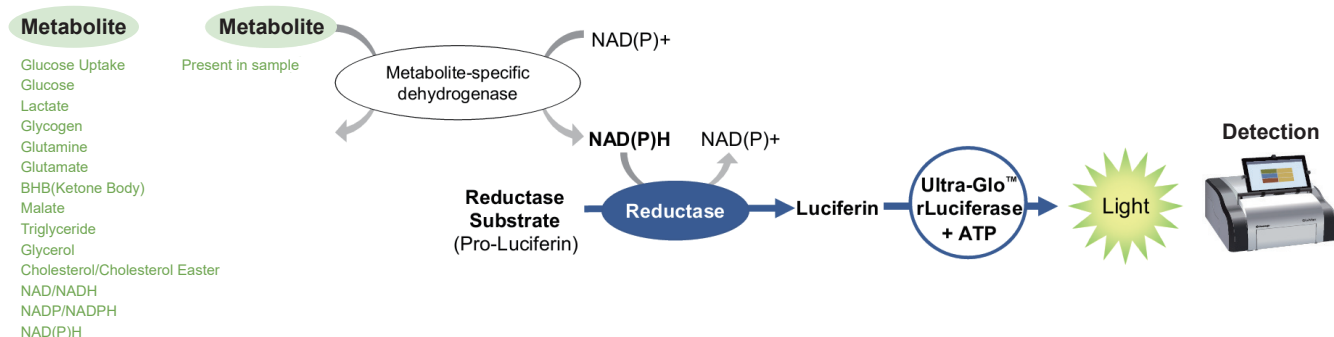
	检测标志物	样本类型	检测通量	线性范围	时间	产品	目录号 规格
辅因子	NAD(P)H	酶	96/384/1536	25nM-50μM S/B max ~ 400	40-60 分钟	NAD(P)H-Glo™ Detection System	G9061 10ml G9062 50ml
	NAD/NADH	3D 细胞, 酶	96/384/1536	1-500nM S/B max ~ 250	30-60 分钟	NAD/NADH-Glo™ Assay	G9071 10ml G9072 50ml
	NADP/NADPH	3D 细胞, 酶	96/384/1536	1-500nM S/B max ~ 250	30-60 分钟	NADP/NADPH-Glo™ Assay	G9081 10ml G9082 50ml
线粒体功能	线粒体细胞膜完整性和 ATP 水平	哺乳动物细胞	96/384	—	30 分钟 + 50-60 分钟	Mitochondrial ToxGlo™ Assay	G8000 10ml G8001 100ml
	苹果酸 Malate	3D 细胞培养基、细胞裂解物, 组织匀浆, 血浆 / 血清	96/384	50nM-25μM S/B max > 200	—	Malate-Glo™ Assay	JE9100 5ml JE9200 50ml
	丙酮酸 Pyruvate	3D 细胞、细胞培养基等复杂样本	96-384	400nM-50μM S/B max > 150	—	Pyruvate-Glo™ Assay	J4051 5ml J4052 50ml
氧化应激	ROS H ₂ O ₂ 水平	3D 细胞, 酶	96/384	—	2 小时	ROS-Glo™ H ₂ O ₂ Assay	G8820 10ml G8821 50ml
	谷胱甘肽 GSH	细胞, 组织, 血液样本	96/384	—	45 分钟	GSH-Glo™ Glutathione Assay	V6611 10ml V6612 50ml
	谷胱甘肽 / 氧化型谷胱甘肽比率 GSH/GSSG ratio	3D 细胞、组织提取物、血液样本	96/384	—	45 分钟	GSH/GSSG-Glo™ Assay	V6911 10ml V6912 50ml
DIY 定制检测系统	依赖于 NAD 或 NADP 的代谢物特异性脱氢酶 Dehydrogenase	培养细胞, 培养基样品, 组织匀浆和血清	96/384	—	—	Dehydrogenase-Glo™ Detection System	J9010 5ml J9020 50ml
	代谢物	细胞裂解物, 组织匀浆和血清等复杂样本	96/384	—	—	Metabolite-Glo™ Detection System	J9030 5ml J9040 50ml

- 其他生物样本类型如脑脊液、尿液、细菌等需客户自己进行测试;
- 3D 表示可以用于或经过特殊处理可以用于 3D 培养样本的检测;
- Lumit™ Insulin Immunoassays 产品暂未发布, 详情请咨询 Promega;

细胞代谢检测系统原理

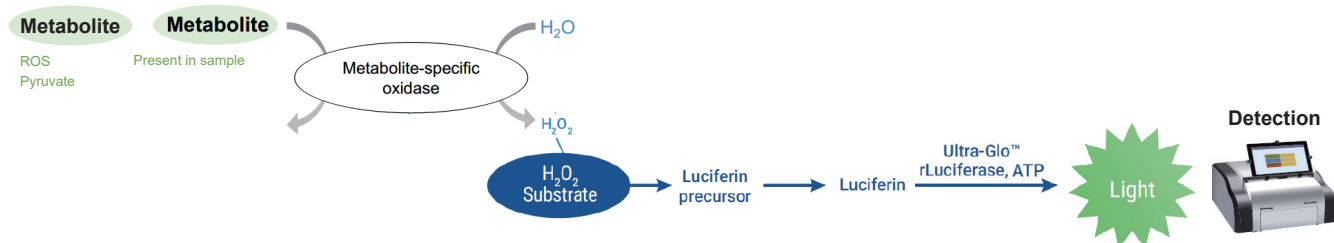
基于 NAD(P)H 的生物发光法检测

该方法利用酶偶联，代谢物和其特异性脱氢酶反应，将 NAD(P)⁺ 还原成 NAD(P)H，存在 NADH 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。



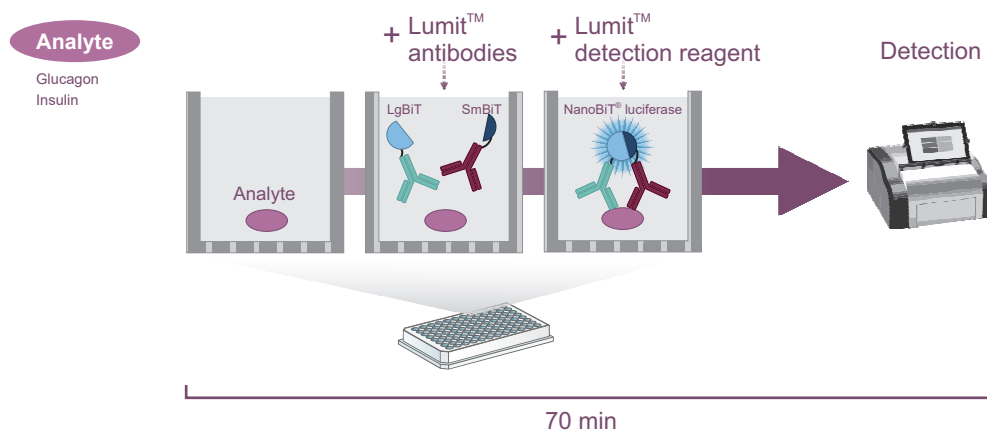
基于 H₂O₂ 的生物发光法检测

该方法利用酶偶联，代谢物和其特异性氧化酶反应，生成 H₂O₂，存在 H₂O₂ 时，H₂O₂ 底物会生成萤光素前体，加入检测试剂，将萤光素前体转化为萤光素，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。



基于 Lumit™ 免疫检测的生物发光法检测

Lumit™ 免疫检测系统基于 NanoLuc® Binary Technology (NanoBiT®)。抗体分别用 NanoLuc® 萤光素酶的大小亚基（称为 SmBiT 和 LgBiT）进行化学标记。在分析物存在的情况下，两种抗体非常接近，从而使 SmBiT 和 LgBiT 形成有活性的酶在底物存在的情况下产生明亮的发光信号。反应产生的光信号与样品中分析物的量成正比，通过发光检测仪进行检测。



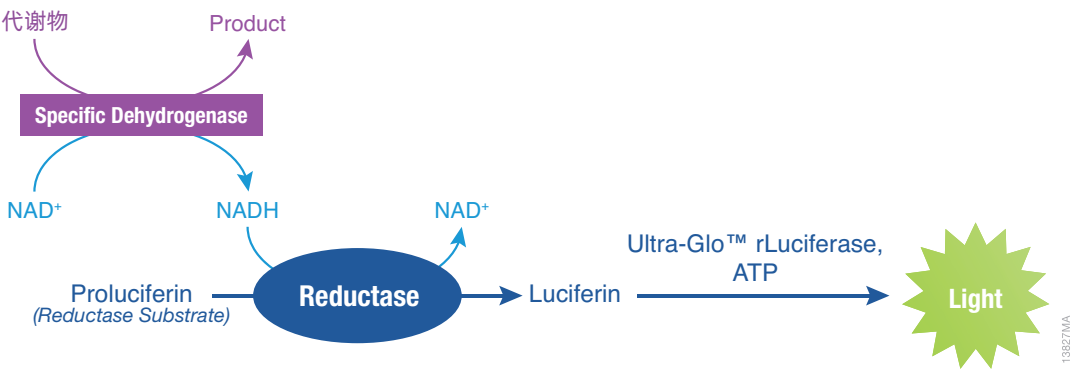
DIY 定制代谢检测系统

自行定制代谢物检测系统

Metabolite-Glo™ Detection System 是一种基于 NAD(P)H 生物发光检测技术的检测系统。本试剂盒可用于培养细胞，培养基样品，组织匀浆和血清，构建您专属的生物发光代谢物检测方法，具体操作方法参考说明书或咨询 Promega。

- Step1:** 确定依赖于 NAD 或 NADP 的代谢物特异性脱氢酶（用户自行准备）；
- Step2:** 根据 Metabolite-Glo™ Detection System 试剂盒操作说明书或 Application Note 构建您的专属代谢物检测方法；
- Step3:** 使用具有发光功能的多功能检测仪完成检测。

检测原理



自行定制脱氢酶检测系统

Dehydrogenase-Glo™ Detection System 是一种基于 NAD(P)H 生物发光检测技术的检测系统。您需要提前确定并提供依赖于 NAD 或 NADP 的脱氢酶底物，本试剂盒可用于细胞裂解物，组织匀浆和其他样品，可构建您专属的特异性脱氢酶检测方法，具体操作方法参考说明书或咨询 Promega。

检测代谢途径脱氢酶及推荐脱氢酶底物：

代谢途径	脱氢酶	脱氢酶底物	(NAD/NADP)
糖酵解	甘油醛 -3- 磷酸脱氢酶 (GAPDH)	d- 甘油醛 3- 磷酸 (Sigma Cat.# 39705)	NAD
磷酸戊糖途径	葡萄糖 -6- 磷酸脱氢酶 (G6PDH)	葡萄糖 6- 磷酸 (Sigma Cat.# 10127645001)	NADP
磷酸戊糖途径	6- 磷酸葡萄糖酸脱氢酶 (6PGDH)	6- 磷酸葡萄糖酸酯 (Sigma Cat.# P7877)	NADP
TCA 循环	异柠檬酸脱氢酶 (IDH)	d- 异柠檬酸酯, (Sigma Cat.# 58790)	NADP

产品订购信息

产品	规格	目录号
Dehydrogenase-Glo™ Detection System	5ml	J9010
	50ml	J9020
Metabolite-Glo™ Detection System	5ml	J9030
	50ml	J9040

相关金牌技术 -CellTiter-Glo® 细胞活力检测系统

1 步法 ATP 检测

最低仅需 10min 孵育

高通量

2D 细胞 / 3D 细胞 / 生化样本

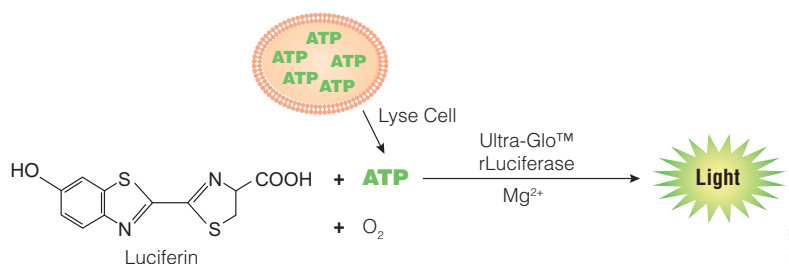


微信
扫描
获得
更多
信息

细胞活力检测的“金标准” –Promega 的 CellTiter-Glo® Luminescent Cell Viability Assay, 简称 CTG。被广大用户评价为最经典的细胞 ATP 检测方法, 是公认的高灵敏度、快速细胞活力检测试剂盒, 也是高分文章的宠儿, 拥有海量的引用文献, 是进入了各大药厂药物研发 SOP 多年的经典系统。

检测原理

利用萤光素酶在与甲虫萤光素底物进行发光反应时需要 ATP, 而 ATP 的量与发光强度呈线性关系。



产品性能

性能指标	CellTiter-Glo® Luminescent Cell Viability Assay	CellTiter-Glo® 2.0 Assay	CellTiter-Glo® 3D Cell Viability Assay
产品特点	- 经典金标准检测法 (简称 CTG) - 快速, 最快 10 分钟孵育 - 灵敏, 可检测低至 10 个细胞 - 高通量, 轻松兼容 96-1536 通量	- CTG 的迭代产品 - 单一试剂, 可直接使用 - 试剂更稳定	- 专为 3D 培养样本而设计 - 具有 CTG 产品所有特点
细胞类型	2D 培养细胞, 3D 培养细胞	2D 培养细胞, 3D 培养细胞	3D 培养细胞, 2D 培养细胞
3D 培养细胞检测	<350 微米	<350 微米	700 微米
重组试剂室温稳定性	8 小时	7 天	12 小时
重组试剂 4°C 稳定性	3.5 天	2 个月	3.5 天
信号半衰期 (小时)	>5 小时	>5 小时	>3 小时
检测灵敏度 (384 孔板)	10-15 个细胞	10 个细胞	15 个细胞
反应时间	10min	10min	<30min
检测仪器	具有生物发光功能的多功能检测仪		
目录号 规格	G7570 10ml G7571 10X10ml G7572 100ml G7573 10X100ml	G9241 10ml G9242 100ml G9243 500ml	G9681 10ml G9682 10X10ml G9683 100ml

相关金牌技术 - 其他细胞活力检测系统

性能指标 产品名称	RealTime-Glo™ MT Cell Viability Assay	CellTiter-Fluor™ Cell Viability Assay	CellTiter 96® AQueous One Solution Cell Proliferation Assay
检测类型	生物发光	荧光 400Ex/505Em	吸光 490nm
检测原理	活细胞可将特异性底物前体还原为 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。	检测活细胞内一种保守蛋白酶，活性仅与完好的活细胞有关。可穿透细胞膜的活性底物（CF-AFC）进入活细胞后，被活细胞蛋白酶切割，产生荧光信号。	MTS 新型四唑盐可与线粒体中的脱氢酶反应产生可溶性的棕色甲臜，直接释放至培养基中。
检测标志物	活细胞还原电位	活细胞内蛋白酶	线粒体脱氢酶
产品特点	● 非裂解性，可长达 72h 实时监测细胞活力	● 裂解性，适合多重检测	● 升级版一步法 MTS，无需去除培养基上清或加入有机溶剂
时间	实时监测	0.5-3h	1-4h
灵敏度	<100 个细胞 / 孔	40 个活细胞	1000 个活细胞
通量	96/384/1536	96/384/1536	96/384
目录号 规格	G9711 100 assays G9712 10×100 assays G9713 1,000 assays	G6080 10 ml G6081 5 × 10 ml G6082 2 × 50 ml	G3582 200 assays G3580 1,000 assays G3581 5,000 assays

相关金牌技术 - 细胞毒性检测系统

性能指标 产品名称	LDH-Glo™ Cytotoxicity Assay	CytoTox 96® Non- Radioactive Cytotoxicity Assay	CytoTox-Glo™ Cytotoxicity Assay	CellTox™ Green Cytotoxicity Assay
检测标志物	LDH 释放	LDH 释放	死细胞蛋白酶	膜破裂后的 DNA 荧光染色
检测类型	生物发光	吸光 (490nm)	生物发光	荧光 (485– 500 _{Ex} /520– 530 _{Em})
检测原理	乳酸脱氢酶 (LDH) 催化乳酸氧化，同时 NAD ⁺ 还原为 NADH。还原酶利用 NADH 和还原酶底物生成萤光素 (Luciferin)，然后 luciferin 被 Ultra-Glo™ 超稳萤光素酶转化，产生生物发光信号。	四唑盐 (INT) 能够与细胞膜损坏的细胞中释放出来的 LDH 反应转变成红色的甲臜。	活细胞非渗透性肽底物可与膜失去完整性后释放的“死细胞蛋白酶”反应产生发光信号。	专利荧光染料不能进入活细胞，但可以进入受损细胞与 DNA 结合，从而使受损细胞荧光获得显著增强。
产品特点	● 一步法 ● 高灵敏度，所需样品少 (2-5μl)	● 经典，文献引用率高 ● 仪器要求低	● 一步法，高灵敏度 ● 单一试剂 ● 膜完整性检测	● 终点法或可长时间实时监测 ● 膜完整性检测 ● 可叠加其他发光检测试剂盒
时间	30 – 60 分钟	30 分钟	15 分钟	15 分钟 -72 小时
灵敏度	< 10 个死细胞	-	10 个死细胞 (96 孔板)	-
通量	96/384/1536	96/384	96/384/1536	96/384/1536
目录号 规格	J2380 10ml J2381 50ml	G1780 1,000 assays	G9290 10ml G9291 5 × 10ml G9292 2 × 50ml	G8741 10 ml G8742 50 ml G8743 100 ml

脂代谢检测

Lipid Metabolism

Promega 脂质代谢检测提供了检测和定量甘油、甘油三酯、胆固醇和胆固醇酯、BHB 的灵敏、简单的方法。这些检测方法可用于脂肪分解和生成的量化，检测代谢变化和细胞模型中胰岛素和胰岛素类似物的生物活性。

脂质代谢检测基于生物发光技术，适用于许多生物样品，包括单层或 3D 结构的培养细胞、组织、细胞培养基、血浆和血清。该检测方案无需有机提取步骤，适用于高通量应用，同时线性范围宽，敏感度高，减少了所需的样品稀释次数，提升了辨别脂质代谢产物水平微小变化的定量能力。

脂代谢检测全线产品介绍

生物发光法消除了比色法和荧光法所受到的信号干扰，且无需有机提取步骤，操作简单。更宽的线性范围，减少样品稀释次数，可鉴别脂代谢微小变化。

产品应用

用于脂肪分解和生成的量化，检测代谢变化和细胞模型中胰岛素和胰岛素类似物的生物活性。

样本类型

细胞裂解物、培养基、组织匀浆、血清，脂蛋白组分，3D 培养物。

技术优势

- 灵敏度 (1 - 5pmole /sample);
- 线性范围宽 (0.1–80 μM);
- 宽动态范围 (最大 S/B >100 倍);
- 适用于不同类型的样品;
- 兼容 96 孔和 384 孔板，适合高通量检测。

检测标志物	甘油	甘油三酯	胆固醇 / 胆固醇酯	BHB酮体
产品	Glycerol-Glo™ Assay	Triglyceride-Glo™ Assay	Cholesterol/Cholesterol Ester-Glo™ Assay	BHB-Glo™ (Ketone Body) Assay
目录号 规格	J3150 5ml J3151 50ml	J3160 5ml J3161 50ml	J3190 5ml J3191 50ml	JE9500 5ml JE9600 50ml
样本类型	细胞、培养基、 3D 培养物、组织、血浆，血清	细胞、 3D 微组织、血浆、血清	细胞、裂解物、 3D 微组织、和血浆，血清	3D 微组织，哺乳动物细胞、细胞培养基、血浆 / 血清
检测类型	生物发光	生物发光	生物发光	生物发光
灵敏度	1-5pmole	1-5pmole	<1μM	50nM (S/N>3)
线性范围	0.1-80μM	0.1-80μM	0.1-80μM	50nM-25μM
高通量	96~384 孔板	96~384 孔板	96~384 孔板	96~384 孔板
操作时间	<2 小时	<2 小时	<2 小时	-

甘油三酯检测

Triglyceride-Glo™ Assay

高灵敏度

无需有机萃取

高通量

Triglyceride-Glo™ Assay 为检测培养细胞裂解物和其他生物样品如细胞培养基、血清和组织匀浆中的甘油三酯提供了一种发光检测方法。该方法适用于检测正常和病理条件下甘油三酯的堆积和清除情况。

产品性能

检测类型	生物发光法
检测标志物	甘油三酯 Triglyceride
原理	基于 NAD(P)H 的酶偶联反应
样品类型	3D、组织匀浆，细胞，血浆 / 血清
检测步骤	简单，无需有机萃取，直接添加试剂检测
通量	自动化流程兼容，可拓展至 96-384 孔板
灵敏度 / 信背景比	0.1-80μM 1-5pmole/sample
时间	<2 小时

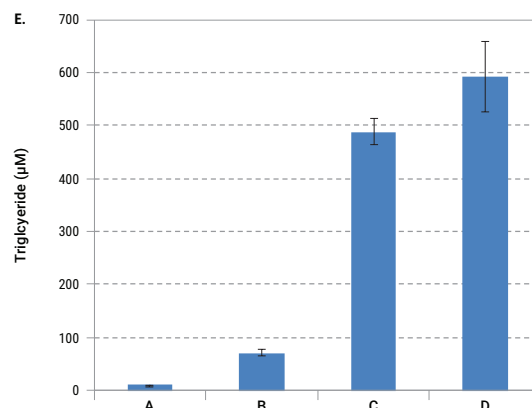
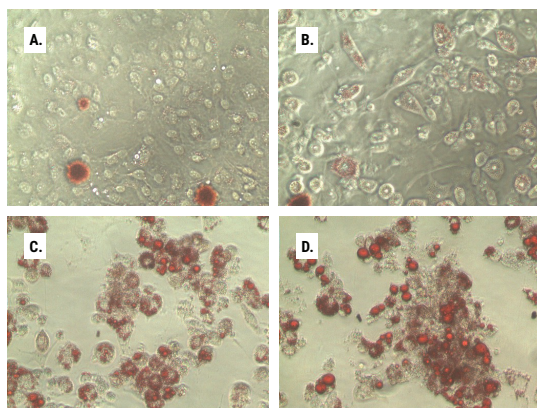
引用文献

- Brian D. Fries, Fernando Tobias, Yijia Wang. *et al.* (2023) Lipidomics Profiling Reveals Differential Alterations after FAS Inhibition in 3D Colon Cancer Cell Culture Models. *Journal of Proteome Research*.
- Garofano L, Migliozi S, Oh YT, *et al.* Pathway-based classification of glioblastoma uncovers a mitochondrial subtype with therapeutic vulnerabilities. *Nat Cancer*. 2021;2(2):141-156.

应用数据：油红 O 染色法与 Triglyceride-Glo™ Assay 定量法的比较

脂溶性油红 O 染色：非直接定量，操作时间长，可直观观察染色

发光法甘油三酯定量检测：直接定量，操作简单，灵敏度、信背比高



上图. 对中性脂质进行染色是监测甘油三酯变化的常用方法，因此，为了证明 Triglyceride-Glo™ Assay 提供了相似但更多的量化的数据，我们对脂肪细胞分化的各个阶段进行了监测。在一组孔板中，细胞用油红 O (Oil Red O) 染色 (A-D 组)；而另一套孔板使用了 Triglyceride-Glo™ Assay。两种检测均显示在初始的成纤维细胞中的甘油三酯含量最低 (A 组)，分化而成熟脂肪细胞中则有大量的甘油三酯 (D 组，分化 21 天)。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 (例如，分化阶段 1 为 5 天，70μM；B 组，分化 12 天)

产品订购信息

产品	规格	目录号
Triglyceride-Glo™ Assay	5ml	J3160
	50ml	J3161

应用：NAFLD & NASH 肝病研究工具

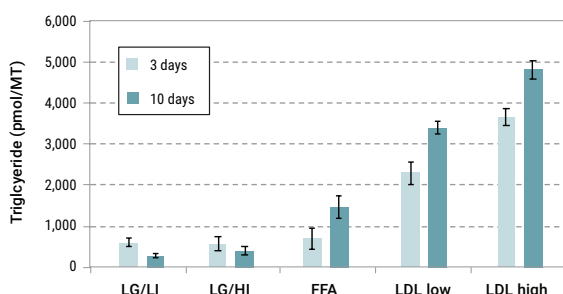
包括非酒精性脂肪性肝病 (NAFLD) 和非酒精性脂肪性肝炎 (NASH) 在内的肝病是慢性疾病，无有效的治疗方法。为了支持肝病研究人员，我们提供了简单可靠的方法来检测细胞代谢、氧化应激和炎症。我们的分析使用发光技术进行检测，灵敏且操作快速而简单。

检测甘油三酯的积累 (脂肪变性)

NAFLD 的标志性病理是肝细胞内甘油三酯的积累，也称为脂肪变性。过量的甘油三酯主要有两个来源：1. 饮食和脂肪组织中的游离脂肪酸 (FFA) 通过脂肪合成转化为甘油三酯。2. 胰岛素抵抗作用促进脂肪从头生成，即由碳水化合物生成甘油三酯。

- 检测脂肪变性和脂肪生成：Triglyceride-Glo™ Assay
- 检测脂肪分解中产生的甘油：Glycerol-Glo™ Assay

以上检测系统可用于多种样品类型，包括细胞裂解物、培养基、组织匀浆、血清和脂蛋白组分。与染色、比色或荧光检测相比，操作简单、无需清洗的方案代替繁琐的有机提取，使用快速洗涤剂裂解步骤来制备脂质样品，生物发光法灵敏度更高。



左图：将 3D InSight™ 人肝微组织 (MT, InSphero, ~ 1150 个细胞 / 孔) 在无血清培养基中孵育 3 天和 10 天，培养基含有生理 (LG/LI) 或超生理 (LG/HI) 水平的葡萄糖和胰岛素，以及与 BSA 结合的游离脂肪酸 (FFA) 或低密度脂蛋白血浆组分 (LDL)。将微组织在 PBS 中洗涤两次，并根据标准操作方法检测总甘油浓度，将数值绘制为每个微组织 (MT) 中甘油三酯的浓度。数据由瑞士苏黎世的 InSphero 公司提供。

使用 NASH 细胞模型评估药物诱导毒性

Kermanizadeh 等人的研究表明，预先存在的疾病在外来生物诱导的肝损伤加剧中至关重要。他们使用 Triglyceride-Glo™ Assay 监测 3D 人类肝脏组织中的脂质积累，同时使用 CellTiter-Glo® 2.0 监测细胞活力。

检测氧化应激和细胞死亡

氧化应激是 NAFLD 进展的重要贡献者。肝脏脂肪变性导致线粒体功能障碍、内质网应激和脂肪毒性，所有这些都有助于过量活性氧 (ROS) 的产生。ROS 的积累是有害的，可导致细胞损伤、死亡和肝纤维化。过度的 ROS 积累最终会导致细胞死亡，这是 NAFLD/NASH 发病的另一个关键过程。

- 无需清洗可以快速检测 H₂O₂：ROS-Glo™ H₂O₂ Assay
- 检测细胞膜破裂：CellTox™ Cytotoxicity Assay

检测氧化应激和细胞死亡

氧化应激会促进肝脏慢性炎症的发生，包括促炎细胞因子的释放。我们提供一种 ELISA 的替代方案：Lumit™ Immunoassays，操作简单，没有洗涤步骤，检测快速。它们在细胞样品中直接检测包括 TNF-α、IL-1β、IL-6、HMGB1 等细胞因子和其他许多你感兴趣的分子的释放，扫描右侧二维码下载《Lumit™ 免疫检测技术解决方案》。



应用：NAFLD & NASH 肝病研究工具

葡萄糖代谢变化检测

有研究表明，脂肪肝的肝细胞中糖酵解过程会发生变化，包括糖酵解、乳酸生成和糖异生过程增加。NAFLD 肝脏中的胰岛素抵抗会导致这种代谢失调。我们提供一系列的分析方法，帮助您灵敏的检测葡萄糖代谢变化。

- 检测糖异生（即新的葡萄糖分子的合成）：Glucose-Glo™ Assay
- 检测糖酵解（即葡萄糖分解转化为能量）：Glucose-Glo™ Assays 和 Lactate-Glo™ Assays
- 葡萄糖摄取速率：Glucose Uptake-Glo™ Assay

癌细胞中糖酵解变化检测

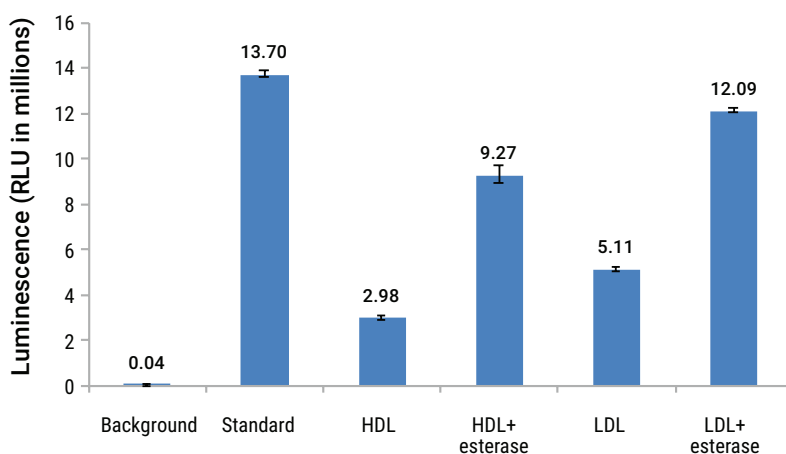
Cai 等人发现二甲双胍有益于降低 HepG2 细胞化疗耐药性，改善肝癌化疗。他们使用一系列 Promega 分析方法 (Glucose Uptake-Glo™, Glucose-Glo™, Lactate-Glo™ 和 NADP/NADPH-Glo™ Assays) 来检测 HepG2 肝细胞癌细胞中的糖酵解。



胆固醇和脂蛋白检测

NAFLD 与肝脏胆固醇升高和脂蛋白产生变化有关。当肝脏中 FFA（游离脂肪酸）过多时，极低密度脂蛋白 (VLDL) 被用来将 FFA 输出到脂肪组织。因此，NAFLD 患者血清中低密度脂蛋白 (LDL 和 VLDL) 升高，高密度脂蛋白 (HDL) 降低。

Cholesterol/Cholesterol Ester-Glo™ Assay（胆固醇 / 胆固醇酯检测试剂盒）可用于量化总胆固醇水平、游离胆固醇水平和胆固醇酯水平。该方案操作简单并且与细胞裂解物、组织、培养基、血清样本和脂蛋白兼容。



上图：使用单一胆固醇标准品检测人脂蛋白中的胆固醇。人高密度脂蛋白 (HDL, 10mg/ml) 和人低密度脂蛋白 (LDL, 5mg/ml) 均来自 Kalen Biomedical。将 HDL 和 LDL 样品分别以 250 倍和 500 倍稀释于 Cholesterol Lysis Solution 中，然后根据含和不含酯酶的检测操作方法对 50μl 试液进行检测。Cholesterol Lysis Solution 中的 40μM 和 0μM 胆固醇分别被用作标准品和背景对照进行检测。RLU 值（以百万为单位）列于每栏的顶部。

糖代谢、氨基酸代谢检测

Glucose & Amino Acid Metabolism

由于葡萄糖代谢是细胞功能的核心，减少葡萄糖摄取或增加糖酵解的变化对细胞和生物体都有广泛影响。与多种疾病相关，如糖尿病，肿瘤，炎症等。

Promega 开发的生物发光检测，可以快速、灵敏和有选择性地检测包括 3D 培养模型在内的多种生物样品中的葡萄糖、乳酸、谷氨酸、谷氨酰胺、支链氨基酸等代谢物。同时还有基于 Lumit™ 免疫检测技术的胰岛素和胰高血糖素检测系统。可以更全面的解析相关的生理病理过程。

糖、氨基酸代谢检测全线产品介绍

技术优势

- 快速灵活的样品制备**
 可检测包括培养基、细胞、组织和血浆,血清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。
- 方便的分析**
 线性范围宽,可对不同样品进行轻松测定。
- 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**
 可轻松兼容 384 孔板通量检测

	检测标志物	样本类型	检测通量	线性范围	时间	产品	目录号 规格
糖代谢	葡萄糖摄取 2-deoxyglucose (2DG)	哺乳动物细胞	96/384	0.5-30 μ M	0.5-5 小时	Glucose Uptake-Glo™ Assay	J1341 5ml J1342 10ml J1343 50ml
	葡萄糖 Glucose	3D 细胞、裂解物、组织、 血浆 / 血清	96/384	<50 μ M S/B max > 1000	1 小时	Glucose-Glo™ Assay	J6021 5ml J6022 50ml
	L- 乳酸 Lactate	3D 细胞、裂解物、组 织匀浆, 血浆 / 血清	96/384	<200 μ M S/B max > 200	1 小时	Lactate-Glo™ Assay	J5021 5ml J5022 50ml
	糖原 Glycogen	NEW 3D 组织匀浆, 细胞, 血浆 / 血清	96/384	20ng-20 μ g/ml S/B max > 150	1 小时	Glycogen-Glo™ Assay	J5051 5ml J5052 50ml
	胰高血糖素 Glucagon	细胞系或胰岛	96/384	1pM-2nM S/B max ~500	70 分钟	Lumit™ Glucagon Immunoassays	W8020 100-400assays W8022 500-2000assays
氨基酸代谢	谷氨酰胺 Glutamin/ Glutamate	3D 细胞、裂解物、组织、 血浆 / 血清	96/384	~25-50nM S/B max > 300	1 小时	Glutamine/ Glutamate- Glo™ Assay	J8021 5ml J8022 50ml
	谷氨酸 Glutamate	3D 细胞、裂解物、组织、 血浆 / 血清	96/384	5nM-50 μ M S/B max > 100	1 小时	Glutamate- Glo™ Assay	J7021 5ml J7022 50ml
	支链氨基酸 BCAA	NEW 3D 哺乳动物细胞、细 胞培养基、血浆 / 血清、 细胞裂解物、组织匀浆	96/384	50nM-25 μ M S/B max > 300	—	BCAA-Glo™ Assay	JE9300 5ml JE9400 50ml

葡萄糖摄取检测

Glucose Uptake-Glo™ Assay

非放射性检测

一步法

0.5-30μM 2DG6P

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。

产品性能

检测类型	生物发光法
检测标志物	葡萄糖摄取检测（2DG6P）
应用	细胞增殖，细胞活力检测
检测原理	基于 NAD(P)H 的酶偶联反应
样品类型	细胞
检测步骤	简单，无需洗涤，仅需添加试剂
通量	兼容自动化流程，可拓展至 96-384 孔板
灵敏度 / 信背景比	可以检测 0.5-30μM 2DG6P，低至 5000 个细胞，信号背景比 >3
时间	0.5-5 小时
产品性能	Z' 因子 >0.5（96-384 孔板）

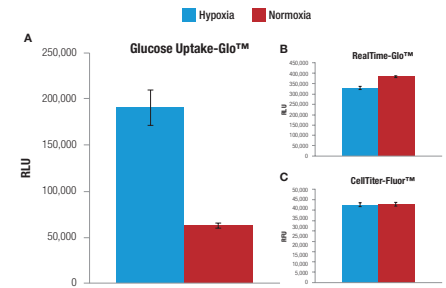
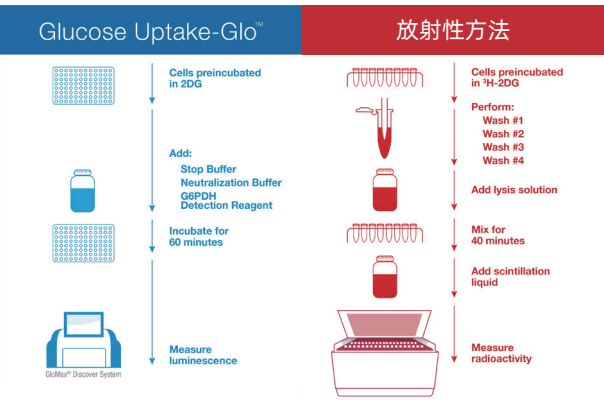
引用文献

- Xia, W., Veeragandham, P., Cao, Y. et al. Obesity causes mitochondrial fragmentation and dysfunction in white adipocytes due to RalA activation. Nat Metab 6, 273–289 (2024).
- Arienti, C. et al. (2021) High-pressure oxygen rewires glucose metabolism of patient-derived glioblastoma cells and fuels inflammasome response. Cancer Lett. 506, 152–66.
- Paolino, M., Kogelgruber, R., Cronin, S.J.F. et al. RANK links thymic regulatory T cells to fetal loss and gestational diabetes in pregnancy. Nature 589, 442–447 (2021).

和传统放射性方法相比信号背景比一致，操作流程更简单



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。



产品订购信息

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

糖原检测

Glycogen-Glo™ Assay

灵敏度 <1µg/ml

2 步法

高通量

Glycogen-Glo™ Assay 是一种快速、灵敏的检测样本中糖原的方法。该方法可帮助您在同一孔中制备样本并读取数据，而无需额外的进行细胞收集、离心或使用离心柱。Glycogen-Glo™ Assay 基于生物发光法，可以检测糖原的合成，储存和分解的微小变化。

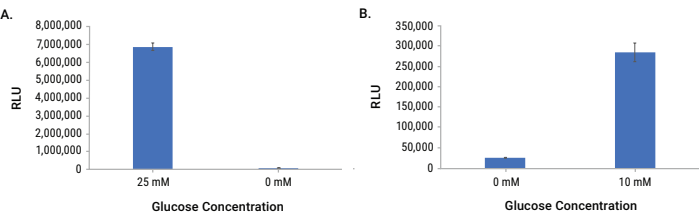
产品性能

检测类型	生物发光法
检测标志物	糖原 Glycogen
应用	检测糖原的合成，储存和分解
原理	基于 NAD(P)H 的酶偶联反应
样品类型	3D 组织匀浆，细胞，血浆 / 血清
检测步骤	简单，无需额外细胞收集，或使用离心柱。
通量	兼容自动化流程，可拓展至 96-384 孔板
灵敏度 / 信背景比	20µg-20µg/ml S/B max > 150
时间	1 小时
产品性能	Z' 因子 >0.5 (96-384 孔板)

引用文献

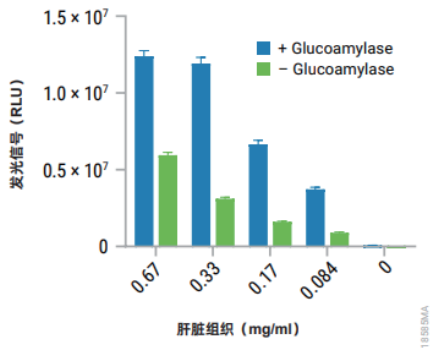
- Groeger, M., Matsuo, K., Heidary Arash, E. et al. Modeling and therapeutic targeting of inflammation-induced hepatic insulin resistance using human iPSC-derived hepatocytes and macrophages. Nat Commun 14, 3902 (2023).
- Saavedra, P., Dumesic, P.A., Hu, Y. et al. REPTOR and CREBRF encode key regulators of muscle energy metabolism. Nat Commun 14, 4943 (2023).

应用数据：监测细胞中糖原的消耗和积累



左图：用于 Glycogen-Glo™ Assay 检测的细胞裂解物制备十分简单，可以很方便的在孔板中进行。首先除去培养基，在用酸(HCl)裂解之前用 PBS 洗涤细胞三次。图 A. 饥饿时细胞消耗糖原。总共 12500 个细胞在含有 25mM 葡萄糖的培养基或含有 0mM 葡萄糖的饥饿培养基中生长过夜。图 B. 饥饿的细胞在葡萄糖存在下积累糖原。将细胞饥饿过夜，收集细胞，然后在含有 0 或 10mM 葡萄糖的培养基中培养 24 小时。

应用数据：检测组织中的糖原



左图：将 10.7mg 的冷冻小鼠肝脏组织 (BioIVT) 切片在 PBS 与 0.3N HCl 预混液中匀浆，最终组织浓度为 10.7mg/ml (1mg/ml 蛋白)。对于 Glycogen 检测，样品使用匀浆溶液进行 2 倍的系列稀释，然后每份稀释液取 25µl 转移至反应板的两个孔。含有 25µl 匀浆溶液的孔作为阴性对照。根据操作步骤示例测定 Glycogen 浓度。

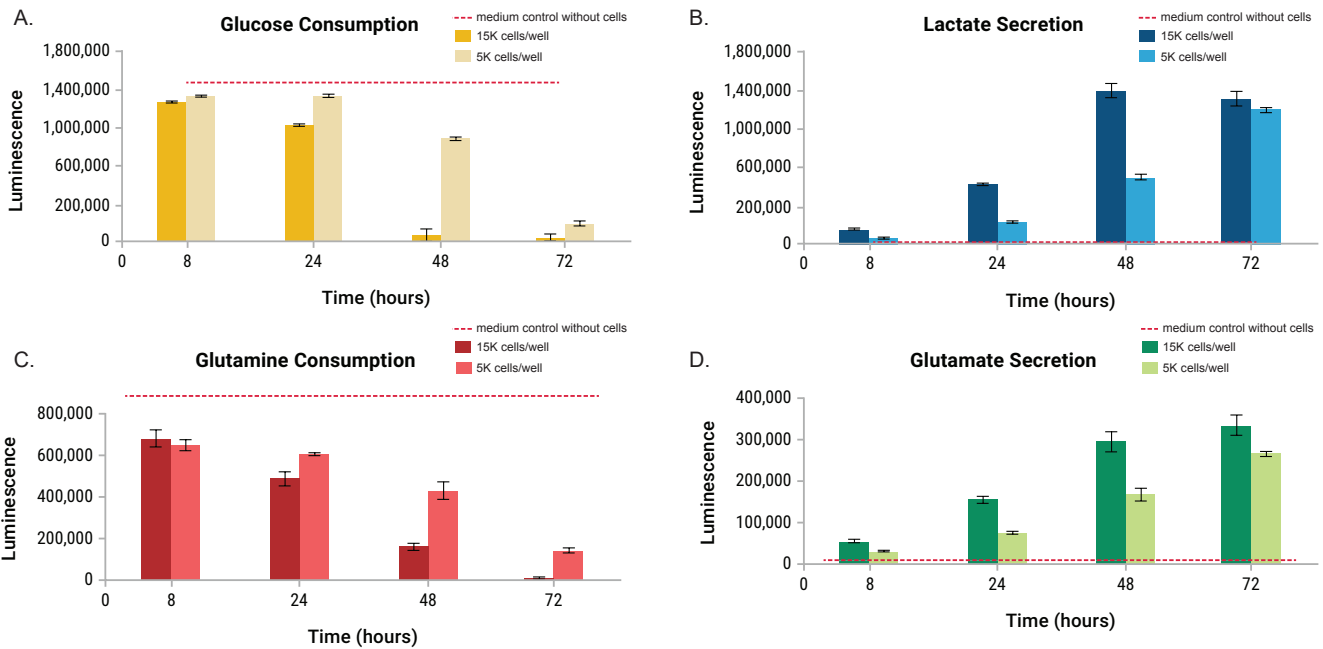
产品订购信息

产品	规格	目录号
Glycogen-Glo™ Assay	5ml	J5051
	50ml	J5052

应用：监控培养基中的营养物消耗和代谢物分泌

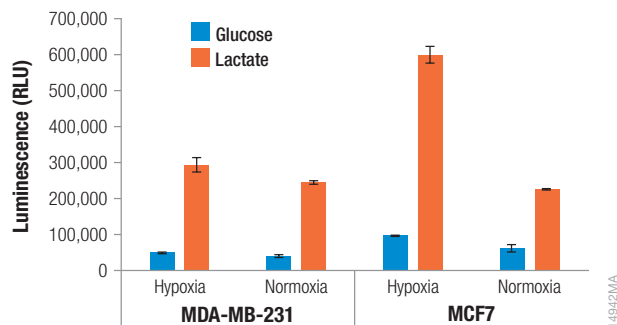
从一个样品中检测多个代谢物

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。

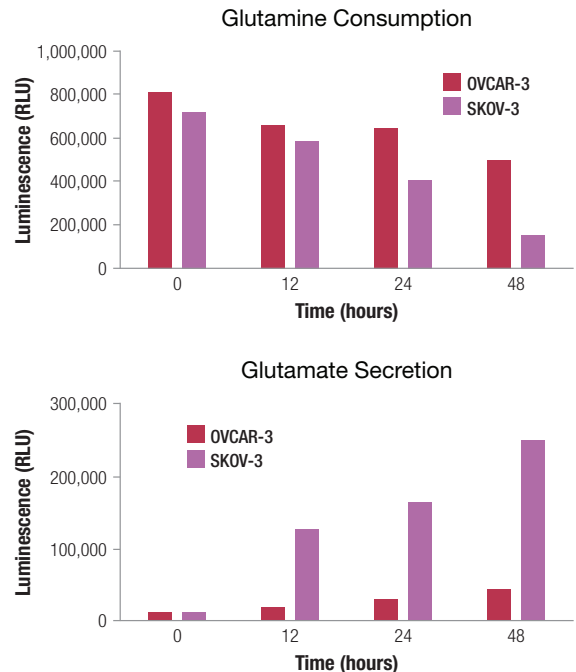


监控培养基中的营养物消耗和代谢物分泌

右图：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，而谷氨酸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。



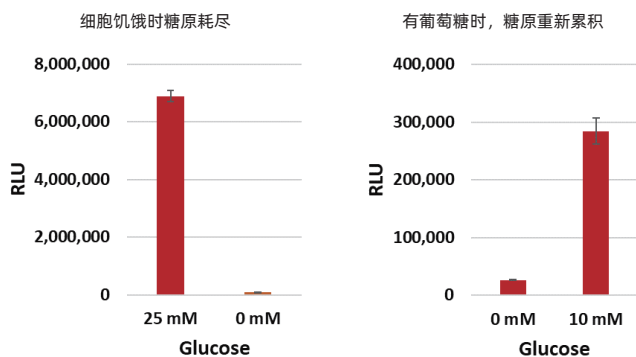
上图：细胞依赖性谷氨酰胺代谢。两种有着不同的谷氨酰胺需求的卵巢癌细胞系表现出不同的谷氨酰胺消耗和谷氨酸分泌的模式。将 SKOV-3 或 OVCAR-3 细胞接种在 96 孔板中，接种密度为 10,000 个细胞 / 孔。在指定的时间点，取 2μl 培养基，稀释并测定。OVCAR-3 细胞的谷氨酸分泌 / 谷氨酰胺消耗的比例较低（~0.17 vs. ~0.42）。

应用：癌细胞代谢特性和通路分析

细胞能量代谢是由相互关联的代谢通路组成的复杂系统，与细胞健康和细胞功能密切相关。癌细胞在代谢通路之间迅速切换以适应其生长环境，提供生长优势，同时对 TME（肿瘤微环境）中的其他细胞（如免疫细胞）产生负面影响。肿瘤微环境中的肿瘤和免疫细胞的代谢需求和缺陷是开发有效癌症疗法的重要部分。

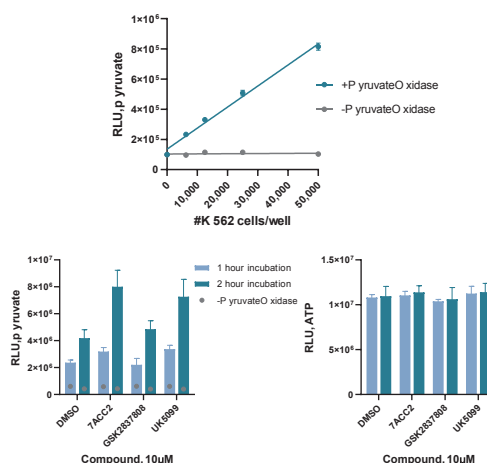
葡萄糖代谢：能量储存

细胞以糖原、高分子葡萄糖聚合物的形式储存葡萄糖，在需要时能快速提供葡萄糖和能量。细胞能储存的糖原量高度依赖于细胞类型和细胞生长条件。采用 Glucose-Glo™ Assay 检测葡萄糖。



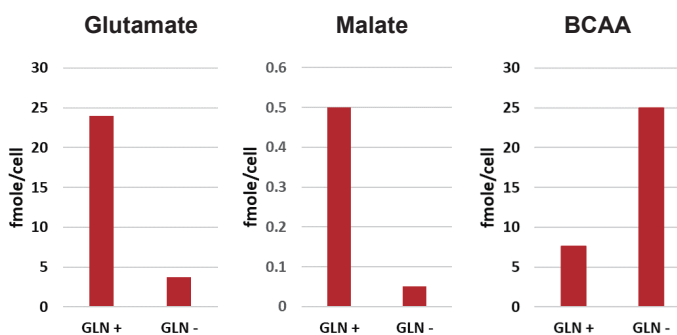
丙酮酸：为三羧酸循环提供能量

采用 Pyruvate-Glo™ Assay 检量 K562 细胞中丙酮酸水平，并观察到丙酮酸水平随化合物处理而变化。在由 MPC 抑制剂 UK5099 和 7ACC2 处理的细胞中，丙酮酸产生积累。通过 ATP (CellTiter-Glo® Luminescent Cell Viability Assay) 来评估细胞孔间变异性和活力。



三羧酸循环中间产物和氨基酸

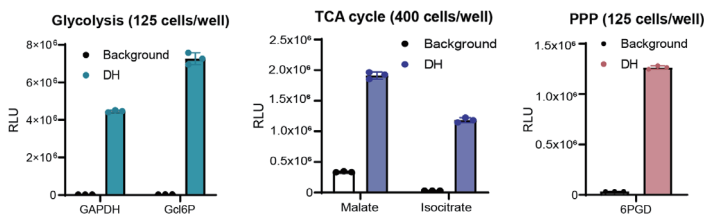
A549 细胞在有或无谷氨酰胺 (GLN) 的情况下生长。谷氨酰胺是一种重要的燃料，以谷氨酸的形式进入三羧酸循环。在没有 GLN 的情况下，谷氨酸和苹果酸的水平降低，但 BCAA 水平上升。



三羧酸循环中间产物和氨基酸

分析三种代谢通路中的脱氢酶 (DH) 活性。

- DH 活性检测具有高灵敏度，且需要的细胞数量很少。
- 该信号对加入的底物具有特异性；观察到的本底信号（无底物组）较低。
- 较高的灵敏度使得可以使用一个样本进行多次分析。



胰岛素与胰高血糖素检测

Lumit™ Insulin and Glucagon Immunoassays

70 分钟

低至 1pM 可检测

高通量

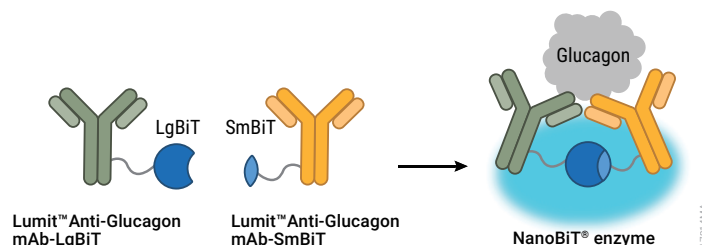
Lumit™ Glucagon Immunoassay 和 Lumit™ Insulin Immunoassay 采用快速、简便、无清洗的方案，定量测量细胞培养物或胰岛分泌样品中的胰高血糖或胰岛素。只需将 Lumit™ 试剂添加到样品中，孵育并使用标准多孔板发光检测仪读取发光信号。只需 70 分钟即可获得结果。Lumit™ Immunoassay 是定量胰岛中激素分泌的理想方法。灵活的分析通量，可扩展至 384 孔板，用于高通量样品处理。

产品性能

检测类型	生物发光法
检测标志物	胰高血糖素 Glucagon
应用	检测样品中的胰高血糖或胰岛素
样品类型	细胞系或胰岛
检测步骤	简单，快速，无需清洗。
通量	自动化流程兼容，可扩展至 96-384 孔板
灵敏度 / 信背景比	2pM–2nM S/B max ~500
时间	70 分钟

检测原理

根据其特异性和敏感性选择的胰高血糖素或胰岛素一抗，被 NanoBiT® 萤光素酶的 LgBiT 和 SmBiT 亚基标记。在胰高血糖素或胰岛素的存在下，这些亚基被结合在一起，以重构活性萤光素酶。加入优化的萤光素酶底物产生与分析物水平成比例的明亮发光信号。



基于多孔板的灵活操作模式

Lumit™ assay 的体系配制是高度灵活的，并且可以根据需要放大或缩小。除上述配制体积外，该试剂可与任何体积 $\geq 5\mu\text{l}$ 的样品以适当的体积配制。有关更多信息，请参见说明书 TM682。

多孔板模式	胰高血糖素样本体积	完整反应体积	检测次数 (Cat.#W8020)	检测次数 (Cat.#W8022)
96-well	50 μl	125 μl	100	500
384-well	12.5 μl	31.1 μl	400	2000

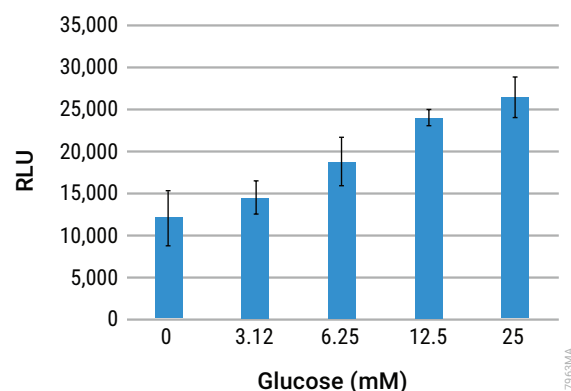
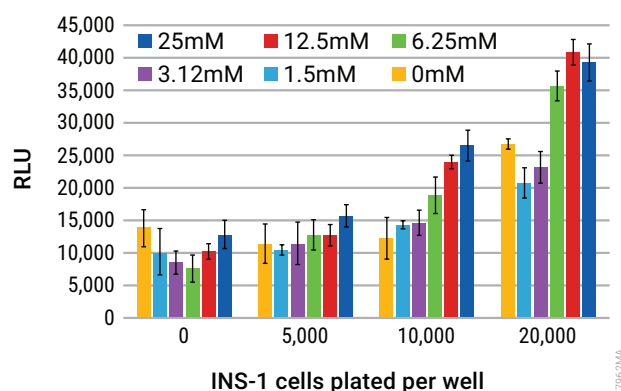
产品订购信息

产品	规格	目录号
Lumit™ Insulin Immunoassay	购买请咨询 Promega	
Lumit™ Glucagon Immunoassay	100-400 assays	W8020
	500-2000 assays	W8022

应用：检测 GSIS(葡萄糖刺激的胰岛素分泌)

胰岛素和胰高血糖素是代谢研究中检测的关键分析靶标。这两种激素分别从胰岛 β 和 α 细胞分泌，对调节体内葡萄糖水平至关重要。使用 Lumit™ Insulin 和 Lumit™ Glucagon Immunoassays，能轻松从单层细胞、3D 胰岛细胞和胰岛等模型里检测激素分泌数据。简单的加样 - 检测的操作流程与静态和动态葡萄糖刺激胰岛素分泌（GSIS）实验兼容（包括生物流体灌注实验）。生物流体灌注（Perfusion）是一种研究激素分泌随时间变化和对连续治疗反应的有效方法，会产生大量样本用于分析。Lumit™ Immunoassays 检测法，避免了繁琐的清洗步骤，让大量样本分析变得更加容易更快地获得数据。

定量 INS-1 细胞的胰岛素分泌



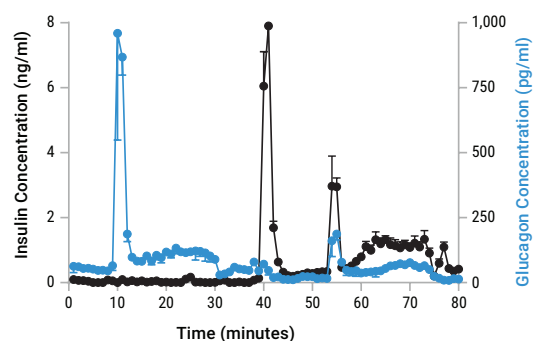
用 Lumit™ 免疫检测系统监测细胞胰岛素分泌对葡萄糖的反应。

图 A. 在 96 孔板中以不同的细胞 / 孔重复接种 INS-1 细胞用于葡萄糖刺激的胰岛素分泌实验。60 分钟后，取出 10 μ l 上清液，用 Lumit™ 胰岛素免疫检测系统分析 384 孔板中的样品。误差为 ± 1 s.d.

图 B. 显示了使用 10000 个细胞 / 孔的同一实验的数据，表明随着葡萄糖浓度的增加，胰岛素释放增加。

定量检测小鼠胰岛胰岛素和胰高血糖素的分泌

使用生物流体灌注实验中收集的样本检测胰岛素和胰高血糖素分泌。将 80 个小鼠胰岛放置在生物流体灌注仪器中（Biorep）的三个腔室中。用 2.7mM 葡萄糖处理胰岛，然后用 10mM 葡萄糖与氨基酸混合物组合。每分钟收集一次灌注液。将每种样品的 10 μ l 转移到 384 孔板的孔中，并检测胰岛素或胰高血糖素。叠加胰岛素和胰高血糖素数据。该数据由威斯康辛州麦迪逊市威斯康星大学弗吉尼亚医院 Hannah Foster 和 Matthew Merrins 博士提供。



使用 Lumit™ Glucagon Immunoassay，以表征控制 α 细胞胰高血糖素分泌的复杂调节机制。

详情请参考下面的文献

El, K. *et al.* (2021) GIP mediates the incretin effect and glucose tolerance by dual actions on α cells and β cells. *Sci. Adv.* 7, abf1948.



支链氨基酸检测

BCAA-Glo™ Assay

无需收集细胞

S/B≥200

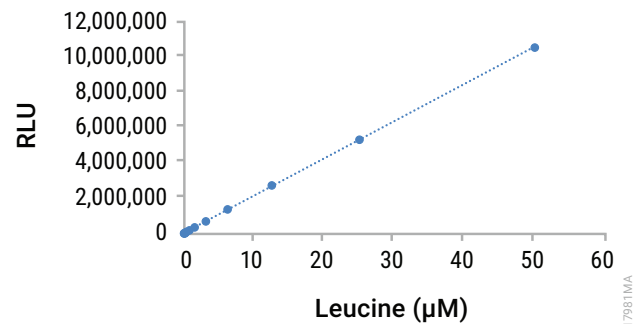
高通量

支链氨基酸（Branched chain amino acids；亮氨酸、缬氨酸和异亮氨酸）作为蛋白质合成的底物、能量来源和必需的信号分子，在生物学许多领域中发挥着重要作用，如促进胰岛素释放，促进生长激素释放等。BCAA-Glo™ Assay 是一种基于生物发光的快速、灵敏的支链氨基酸检测方法，帮助您检测多种生物样品类型中支链氨基酸的微小变化。

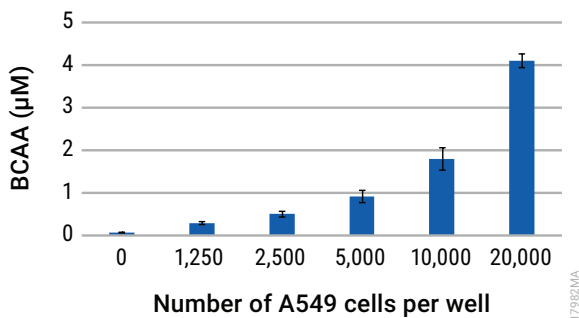
产品性能

检测类型	生物发光法
检测标志物	支链氨基酸 BCAA
原理	基于 NAD(P)H 的酶偶联反应
样品类型	3D 哺乳动物细胞、细胞培养基、血浆 / 血清、组织匀浆
检测步骤	简单，快速，无需清洗。
通量	自动化流程兼容，可拓展至 96-384 孔板
灵敏度 / 信背景比	50nM-25μM S/B max > 300

亮氨酸滴定曲线



上图：生物发光信号（RLU）与样品的 BCAA 含量成比例。使用试剂盒中提供的亮氨酸阳性对照制作标准曲线，可以确定待测样品中 BCAA 的精确浓度。



应用数据：检测 BCAA 仅需少量细胞

对于细胞内 BCAA 检测，简化了样品制备步骤，以便在同一孔中进行细胞裂解和随后的 BCAA 检测。不需要细胞收集、离心或旋转柱。只需从平板细胞中取出培养基，用 PBS 洗涤，然后加入酸溶解细胞。裂解产物可以直接在孔中或转移到新的 96 或 384 孔板后进行分析。

将 A549 细胞以所示数量分为 4 份，铺到 96 孔板的孔中。在孔内裂解后，用 BCAA-Glo™ 检测每个样品中的 BCAA 含量。

产品订购信息

产品	规格	目录号
BCAA-Glo™ Assay	5ml	JE9300
	50ml	JE9400

核苷酸和辅因子检测

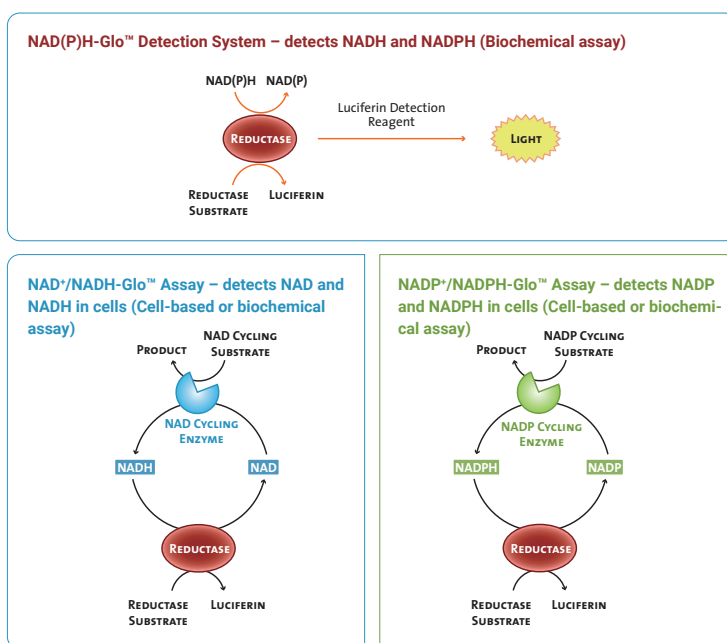
Nucleotide & Co-Factor Detection Assays

NAD^+ , NADP^+ , NADH 和 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 NADH - 或 NADPH - 产生的反应。而 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。

二核苷酸检测

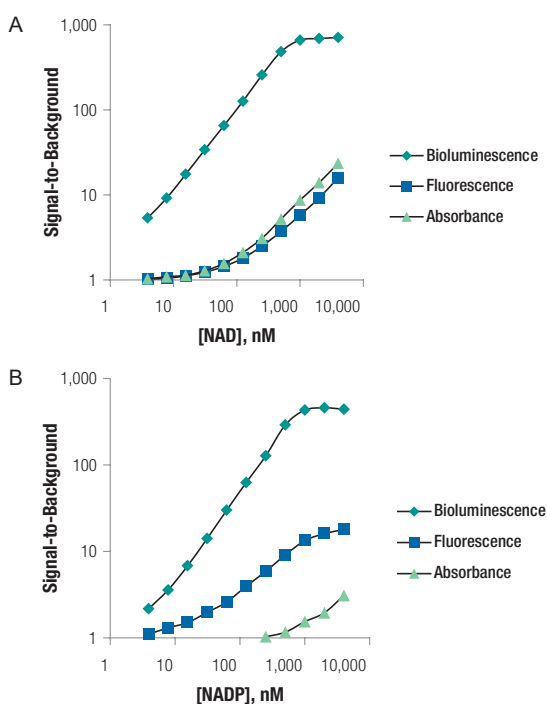
NAD⁺、NADH、NADP⁺ 和 NADPH

癌症是一种细胞生长失控的疾病，需要癌症细胞改变代谢途径才能生存和增殖。致癌基因和抑癌基因的这种代谢重编程的主要机制仍不清楚。烟酰胺腺嘌呤二核苷酸（NAD⁺、NADH、NADP⁺ 和 NADPH）是细胞能量代谢的基本共同因素。这些二核苷酸对大分子生物合成和维持细胞氧化还原电位至关重要。此外，NAD 依赖的信号通路（例如，单 ADP 和多 ADP 核糖基化、蛋白质脱乙酰化）参与调节与癌症发展相关的其他过程，包括表观遗传调节、细胞周期进展、DNA 修复和昼夜节律。NAD⁺、NADH、NADP⁺ 和 NADPH 在细胞能量代谢和信号传导中的中心作用使它们成为连接细胞代谢状态与能量稳态和基因调节的重要靶点独立节点。快速、易用的测定方法为研究它们在这些过程中的作用提供了方便的工具。



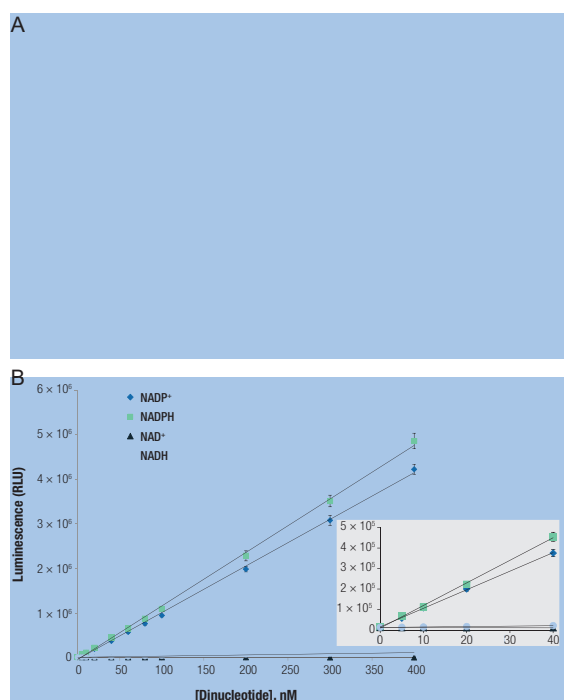
Promega 提供了三种生物发光检测产品，用于快速、灵敏地检测氧化还原定义的辅因子 NAD⁺、NADH、NADP⁺ 和 NADPH。

生物发光法优于其他检测方法



上图：与其他方法进行比较，生物发光是检测烟酰胺腺嘌呤二核苷酸最灵敏的方法。

对 NAD(P)⁺ 和 NAD(P)H 检测具有选择性



上图：NAD/NADH-Glo™ 和 NADP/NADPH-Glo™ 检测对磷酸化或非磷酸化形式的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸具有选择性。

NAD/NADH,NADP/NADPH 检测

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

S/B Max ≥ 250

高灵敏度、通量

2D 细胞 /3D 细胞 / 生化样本

NAD/NADH-Glo™ Assay 和 NADP/NADPH-Glo™ Assay 是基于发光的一步法、均质检测方法。高灵敏度，对细胞数量要求少，能够快速检测细胞和酶促反应中的 NAD⁺ 和 NADH 以及 NADP⁺ 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，也更适用于高通量形式的抑制剂筛选。

产品性能

检测类型	生物发光法
检测标志物	NAD(P)/NAD(P)H
检测原理	基于 NAD(P)H 的酶偶联反应
样品类型	3D 细胞，酶
检测步骤	一步法，均质型检测
通量	自动化流程兼容，可拓展至 96/384/1536 孔板
灵敏度 / 信背比	1-500nM S/B max ~ 25
时间	30-60 分钟
性能	Z' 因子值 >0.7，良好的实验重复性
产品性能	Z' 因子 >0.5（96-384 孔板）

产品应用

- 监测细胞内总 NAD(P)⁺ 和 NAD(P)H 水平的变化；
- 确定 NAD(P)⁺/NAD(P)H 比值；
- 监测小分子化合物对酶促反应中 NAD(P)⁺ 和 NAD(P)H 水平的影响及高通量筛选。

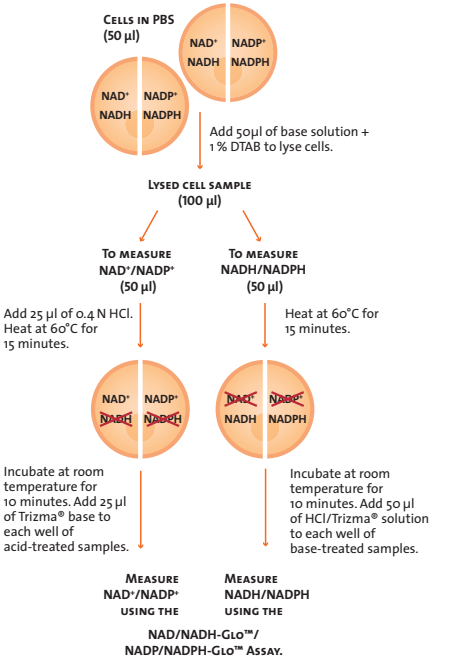
引用文献

- Wolfram-Schauerte, M., Pozhydaieva, N., Grawenhoff, J. *et al.* A viral ADP-ribosyltransferase attaches RNA chains to host proteins. *Nature* 620, 1054–1062 (2023).
- Pacl, H.T., Chinta, K.C., Reddy, V.P. *et al.* NAD(H) homeostasis underlies host protection mediated by glycolytic myeloid cells in tuberculosis. *Nat Commun* 14, 5472 (2023).

产品订购信息

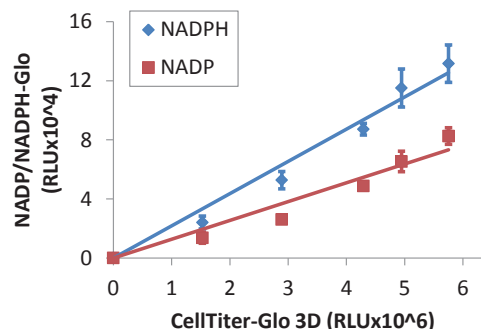
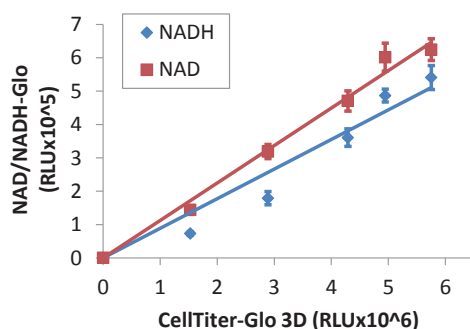
产品	规格	目录号
NAD/NADH-Glo™ Assays	10ml	G9071
	50ml	G9072
NADP/NADPH-Glo™ Assays	10ml	G9081
	50ml	G9082

操作步骤



应用：检测多种样本中 NAD/NADH, NADP/NADPH

检测类器官样本中的 NAD/NADH 和 NADP/NADPH

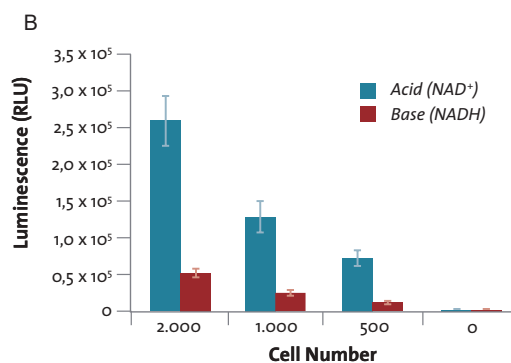
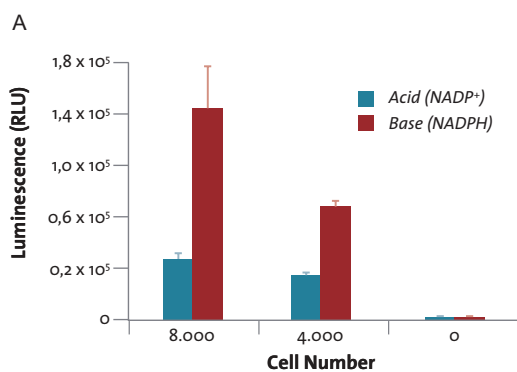


将 HCT116 细胞 (RPMI+10%FBS) 接种在 InSphere 的 GravityPLUSTM 96 孔板悬滴平台中培养 4 天。

加入等体积的 CellTiter-Glo 3D 试剂，振荡 5 分钟，30 分钟后记录发光信号。

从微组织中去除培养基，并在检测前用 50ul PBS 代替。对于 NAD/NADH-Glo™ 和 NADP/NADPH Glo™ 通过加入 50ul 含 1%DTAB 的碳酸氢盐缓冲液 (pH 10.5, +2%DTAB) 并振荡 30 分钟，来裂解直径逐渐递增的细胞微球体。裂解后，将样品分成 2 份 50ul，用于选择性二核苷酸降解。向一份等分试样中加入酸 (25ml 0.4N HCl)，然后两份等分试样都在 60℃下加热，然后用 25ul 0.5M Trizma (酸处理) 或 50ul 0.4N HCl/0.25M Trizma (碱处理) 中和。将中和过的样品等分，分别与 50μl NAD/NADH-Glo™ 或 NADP/NADPH Glo™ 检测试剂一起孵育。在 60 分钟内记录发光。

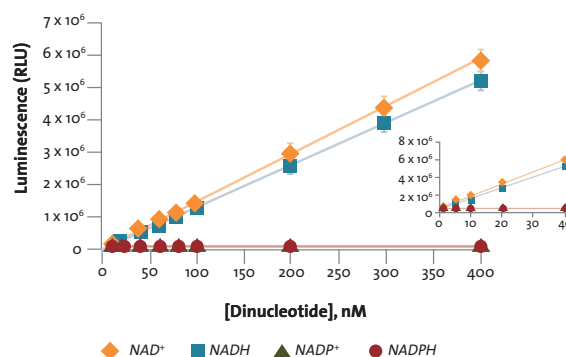
检测细胞样本中的胞内 NADP⁺/NADPH (图 A) NAD⁺/NADH (图 B)。



检测生化样本中的 NADP⁺/NADPH, NAD⁺/NADH。

按照说明书检测每种纯化的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸。

NADH、NADPH、NAD⁺ 和 NADP⁺ 储存液以粉末 (Sigma Cat.#N6660、N9910、N8285 和 N8035) 新鲜制备，并在磷酸盐缓冲盐水 (PBS) 中稀释至指定浓度。在白色 96 孔板中，每种二核苷酸浓度的 50μl 样品与 50μl NAD/NADH-Glo™ Detection Reagent 试剂共孵育。



NADH、NADPH 检测

NAD(P)H-Glo™ Detection System

体外生化检测

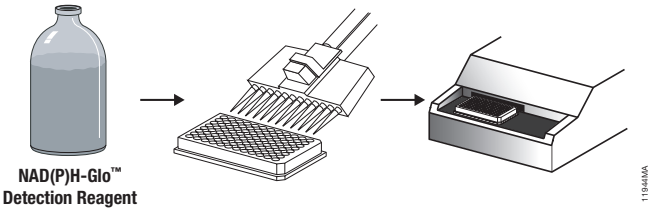
高通量

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⁺ 和 NADP⁺（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。

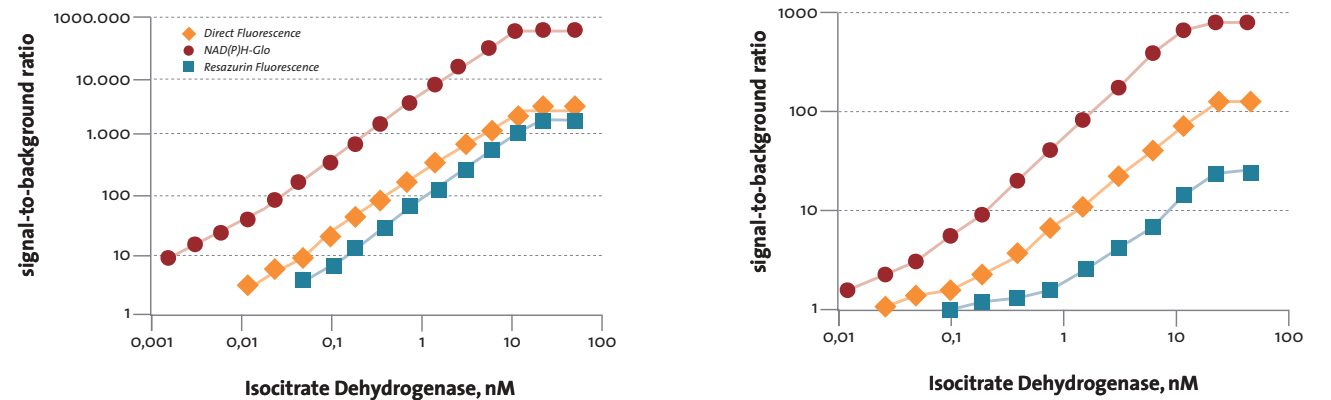
产品性能

检测类型	生物发光法
检测标志物	NAD(P)H
检测原理	基于 NAD(P)H 的酶偶联反应
样品类型	3D 细胞，酶
检测步骤	一步法，均质型检测
通量	自动化流程兼容，可拓展至 96/384/1536 孔板
灵敏度 / 信背比	25nM-50μM S/B max ~ 400
时间	40-60 分钟
性能	Z' 因子值 >0.7，良好的实验重复性，生物发光法，避免荧光干扰

操作步骤



发光检测法更加灵敏



上图：将指定浓度的异柠檬酸脱氢酶（IDH）与 100μM NADP 和 100μM 异柠檬酸盐孵育 30 分钟。使用荧光法和生物发光法进行比较。

产品订购信息

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

氧化应激分析

Oxidative Stress

氧化应激，是活性氧的生产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，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-Glo™ Glutathione Assay 和 GSH/GSSG-Glo™ Assay

1 小时完成检测操作

无需预处理样本

高通量

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/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

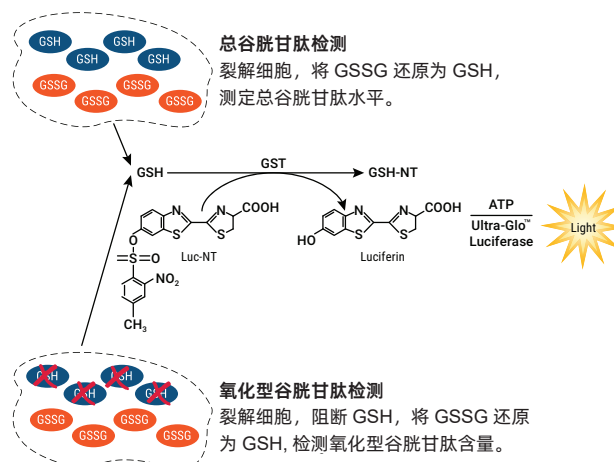
GSH 检测：

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。

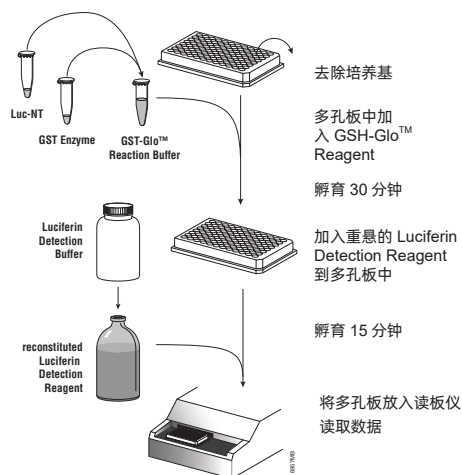
GSH/GSSG 检测：

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。



操作步骤



产品性能

检测类型	生物发光法
检测标志物	谷胱甘肽 GSH 总谷胱甘肽 / 氧化型谷胱甘肽比率 GSH/ GSSG ratio
样品类型	3D 细胞、组织提取物、血液样本
检测步骤	无需预处理样本，快速获得结果
通量	自动化流程兼容，可拓展至 96-384 孔板
时间	45 分钟
性能	检测具有生理相关性 GSH/GSSG 的比值， 无荧光干扰

产品订购信息

产品	规格	目录号
GSH-Glo™ Glutathione Assay	10ml	V6911
	50ml	V6912
GSH/GSSG-Glo™ Assay	10ml	V6611
	50ml	V6612

应用：检测化合物引起的细胞谷胱甘肽变化

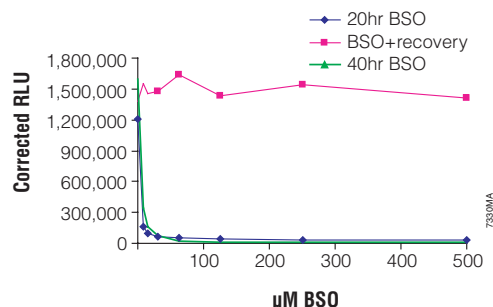
增敏化合物丁硫胺酸亚砷胺 BSO 对细胞中 GSH 消耗和恢复

Hela 细胞 (5000 细胞 / 孔铺于 96 孔板) 以 BSO 处理，BSO 抑制 GSH 合成，从而降低细胞 GSH 水平。

20hr BSO: 用 BSO 处理细胞 20 小时后检测 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 小时后检测细胞中的 GSH。

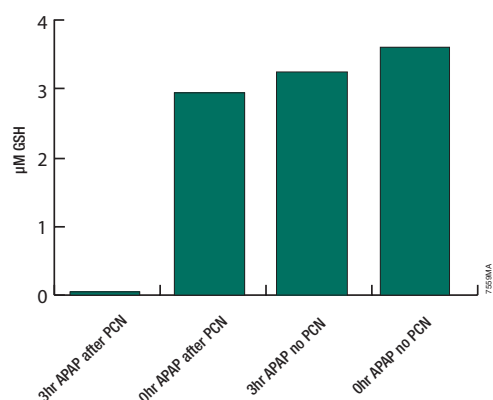
40hr BSO: 用 BSO 处理的细胞，20 小时后洗涤，然后加入含 BSO 的新鲜培养基。40 小时后检测细胞中的 GSH。



对乙酰氨基酚 (APAP) 在肝细胞中消耗 GSH

用 GSH-Glo™ Glutathione Assay 检测 24 孔板中贴壁细胞裂解液中的 GSH 水平。使用检测系统得到的 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) 处理细胞 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。

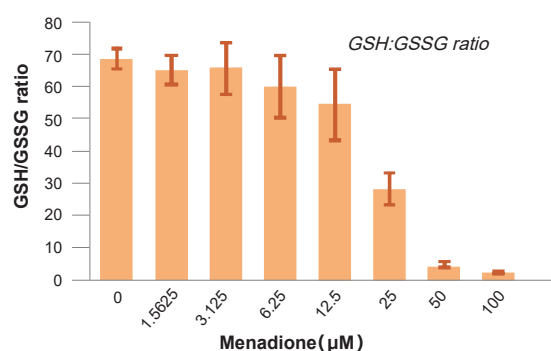
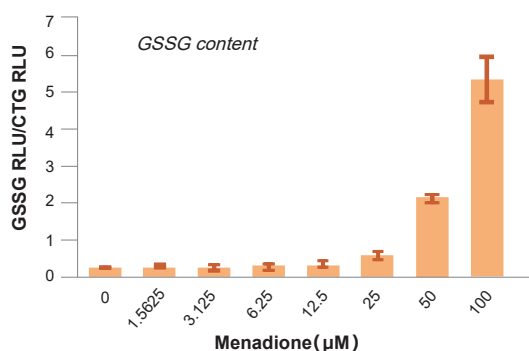
GSH Depletion by Acetaminophen (APAP) in Rat Hepatocytes



甲萘醌对 A549 肺癌细胞的氧化应激状态的影响 - GSH/GSSG 比率检测

左图: 用梯度稀释的甲萘醌 (60 分钟, 37°C) 处理 5000 个细胞 / 孔。检测 GSSG 后，使用 CellTiter Glo® 试剂 (CTG) 将数据与生存能力检测值进行归一化，以补偿由于甲萘醌和实验波动引起的毒性效应的影响。在 60 分钟后显示的两种最高浓度下，甲萘醌具有毒性作用。

右图: 通过检测 A549 细胞中 GSSG 和总谷胱甘肽来测定 GSH/GSSG 比率。在较高浓度下，甲萘醌对细胞的氧化还原状态有显著影响。



ROS 水平检测

ROS-Glo™ H₂O₂ Assay

可叠加多重检测

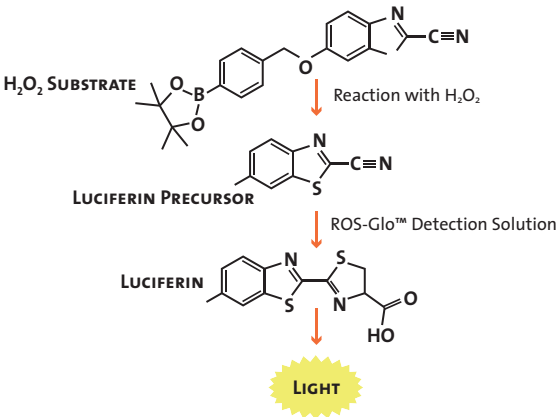
细胞 / 纯酶样本

高通量

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

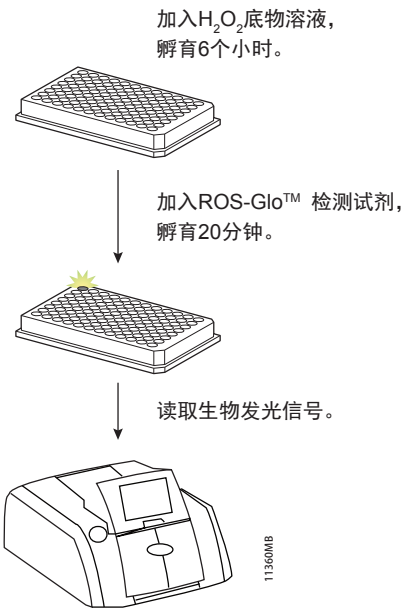
萤光素衍生物底物与样品共孵育,可直接与 H₂O₂ 反应生成萤光素前体。加入 ROS-Glo™ Detection Solution 后,萤光素前体转换为萤光素,经溶液中的 Ultra-Glo™ 重组萤光素酶催化产生发光信号,光信号强度与样品中的 H₂O₂ 水平成正比。



产品性能

检测类型	生物发光法
检测标志物	H ₂ O ₂
原理	基于 H ₂ O ₂ 酶偶联反应
样品类型	3D 细胞, 酶
检测步骤	仅需两步试剂加入, 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。
通量	可拓展至 96-384 孔板
时间	2 小时
性能	可叠加其他方法进行多重检测

操作步骤



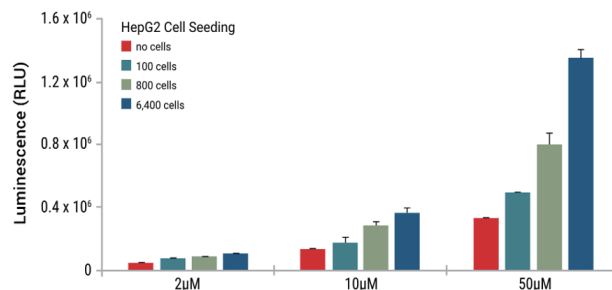
产品订购信息

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

应用：检测不同类型样本中的 ROS

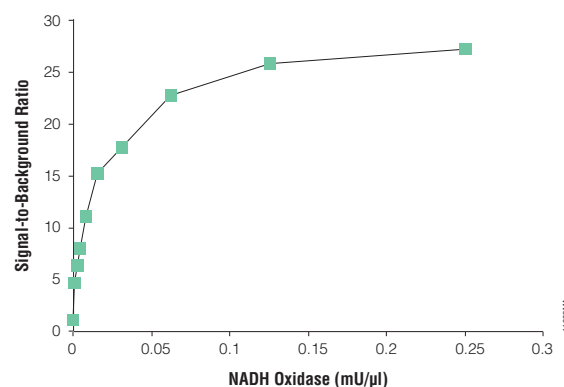
检测 HepG2 Spheroids 微球体的甲萘醌 ROS 诱导反应

不同直径的 HepG2 球体对不同剂量甲萘醌的反应。细胞在超低附着板 (Corning) 中孵育 4 天。用 ROS-Glo™ H₂O₂ Assay 检测 H₂O₂ 的水平, 并在 GloMax® Discover 仪器上读取。



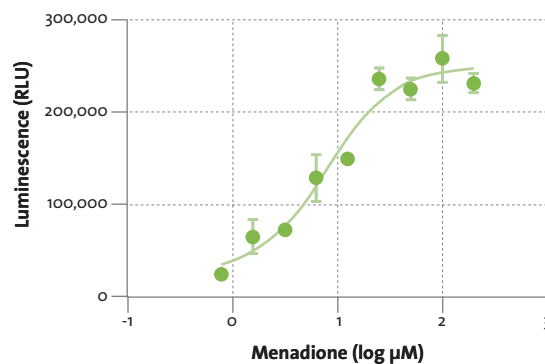
检测 NADH 氧化酶酶活性

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™ H₂O₂ Assay 检测生成的 H₂O₂, 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筛选该酶的抑制剂。



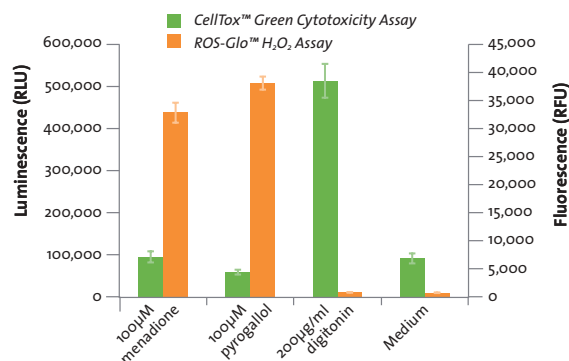
检测培养细胞中的 ROS 诱导

使用 ROS-Glo™ H₂O₂ Assay 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, 无需在实验前将培养基从培养细胞中去除。



检测化合物对细胞影响 - 多重检测

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°C 孵育 2 小时。CellTox™ Green 染料和 H₂O₂ 底物在给药的时候添加。CellTox™ Green 染料孵育后检测荧光。然后加入 ROS-Glo™ 检测液, 孵育 20 分钟后, 检测发光信号。



线粒体功能检测

Mitochondrial function

可通过膜完整性和 ATP 变化检测线粒体功能障碍或非线粒体相关细胞毒性机制，通过丙酮酸和苹果酸检测糖酵解和线粒体代谢的细微变化。

线粒体功能检测

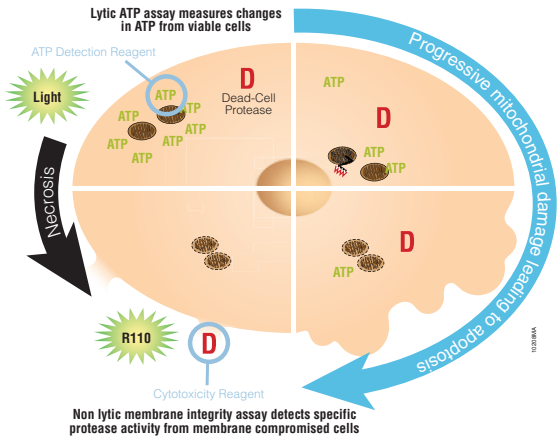
Mitochondrial ToxGlo™ Assay

叠加检测 细胞样本 高通量

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

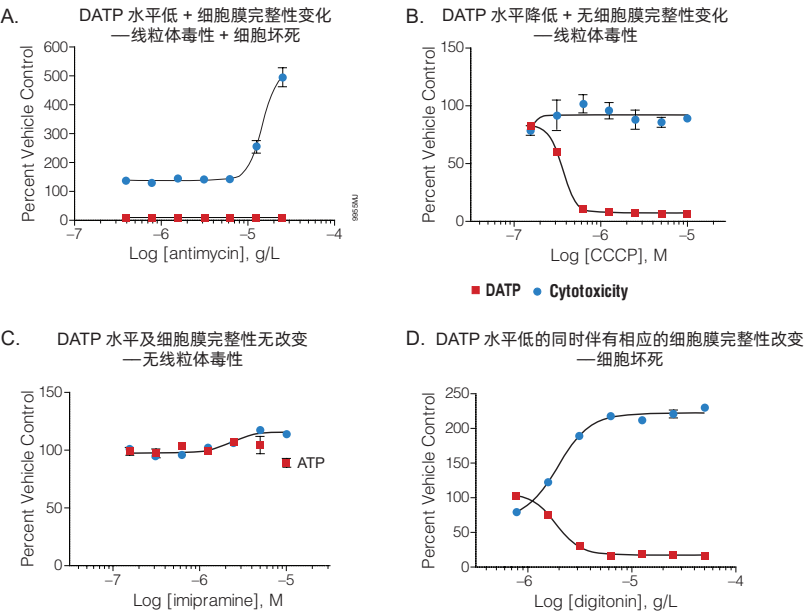
细胞膜的完整性是通过检测与细胞坏死相关联的一个独特的‘死细胞蛋白酶’的活性来确定。ATP 的测定是通过加入 ATP 检测试剂来进行的。综合这两组数据，可以分析是线粒体功能异常还是非线粒体的细胞毒性区别。



产品性能

检测类型	荧光 + 生物发光法
检测标志物	死细胞蛋白酶和 ATP
样品类型	哺乳动物细胞
检测步骤	简单的“加入 - 混合 - 读数”模式
通量	可拓展至 96-384 孔板
时间	30 分钟 +50-60 分钟
性能	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。

实验举例



产品订购信息

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

苹果酸检测

Malate-Glo™ Assay

高灵敏度

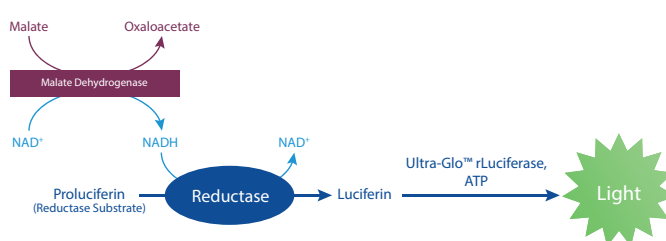
2 步法

高通量

Malate-Glo™ Assay 是一款生物发光检测试剂，可快速、灵敏、有选择性地检测多种生物样本中的 L-malate (L- 苹果酸)。L- 苹果酸是一种三羧酸循环 (TCA) 中间体，也是苹果酸 - 天冬氨酸穿梭过程的重要组成部分。在植物中，苹果酸在卡尔文循环中发挥着重要作用。

检测原理

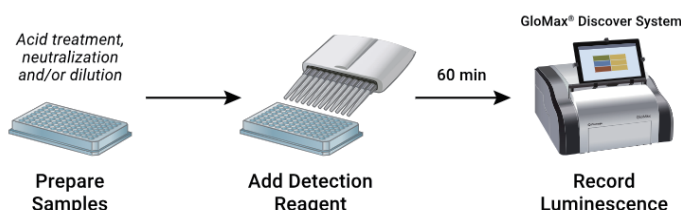
Malate Dehydrogenase 催化 Malate 氧化，同时将 NAD^+ 还原成 NADH。存在 NADH 时，还原酶 (Reductase) 将 pro-luciferin Reductase Substrate 还原为萤光素。萤光素通过 Ultra-Glo™ Recombinant Luciferase 反应，产生的光信号与样品中 Malate 的量成正比。



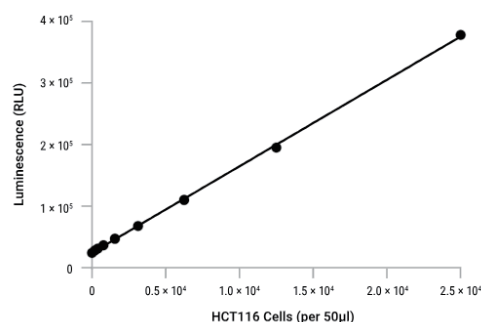
产品性能

检测类型	生物发光法
检测标志物	支链氨基酸 BCAA
原理	基于 NAD(P)H 的酶偶联反应
样品类型	3D 哺乳动物细胞、细胞培养基、血浆 / 血清、组织匀浆
检测步骤	简单，快速，无需细胞收集和离心
通量	自动化流程兼容，可拓展至 96-384 孔板
灵敏度 / 信背景比	50nM-25μM S/B max > 300

操作步骤



应用数据



灵敏检测培养细胞中苹果酸

左图：Malate-Glo™ Assay 检测 HTC116 细胞裂解液中的苹果酸，该方法检测灵敏度高，线性范围广，可使用 380025000cells/50ul 测定苹果酸浓度。

产品订购信息

产品	规格	目录号
Malate-Glo™ Assay	5ml	JE9100
	50ml	JE9200

丙酮酸检测

Pyruvate-Glo™ Assay

高灵敏度

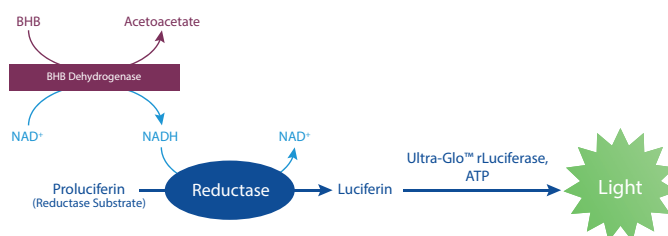
2 步法

高通量

Pyruvate-Glo™ Assay 是一款生物发光检测试剂，可用于快速、灵敏地检测生物样品中的丙酮酸（Pyruvate）。丙酮酸是一种关键的能量代谢中间体，它参与细胞内多种生化途径，其中包括三羧酸循环（TCA cycle）和糖酵解过程。

检测原理

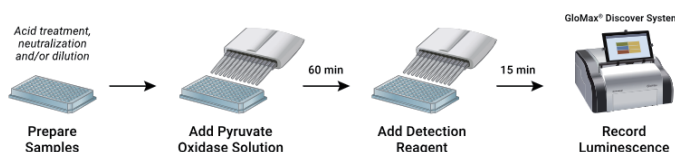
Pyruvate Oxidase 催化 pyruvate 转化为 acetyl phosphate，过程中生成 H_2O_2 。在存在 H_2O_2 时， H_2O_2 底物会生成萤光素前体。加入 Pyruvate-Glo™ 检测试剂，将萤光素前体转化为萤光素，后者可使用 Ultra-Glo™ rLuciferase 进行检测。反应产生的光信号与样品中 pyruvate 的量成正比。



产品性能

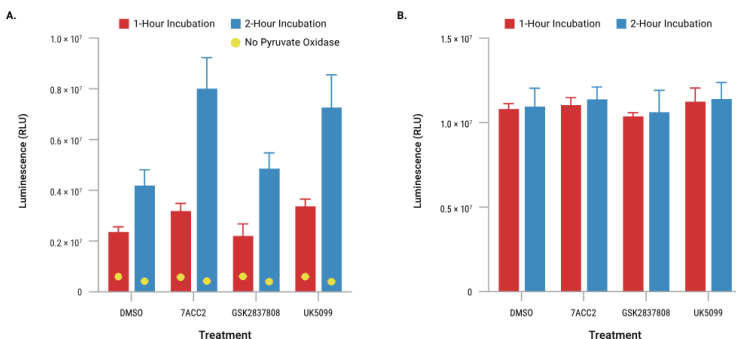
检测类型	生物发光法
检测标志物	苹果酸 L-malate
原理	基于 H_2O_2 酶偶联反应
应用	糖酵解和线粒体代谢的细微变化
样品类型	3D 细胞、细胞培养基，血清
检测步骤	方法操作简单，无需细胞收集和离心
灵敏度 / 信背比	400nM-50μM S/B max > 150
通量	可拓展至 96-384 孔板
时间	75 分钟

操作步骤



应用数据

检测代谢抑制剂对细胞丙酮酸水平的影响



左图：Pyruvate-Glo™ Assay 用于监测培养细胞中的细胞内和细胞外丙酮酸，包括快速评估药物治疗的代谢效果。

产品订购信息

产品	规格	目录号
Pyruvate-Glo™ Assay	5ml	J4051
	50ml	J4052

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

技术支持电话：400 810 8133

技术支持邮箱：chinatechserv@promega.com

更新时间：2024.3