



ATP 发光法细胞活力检测试剂盒

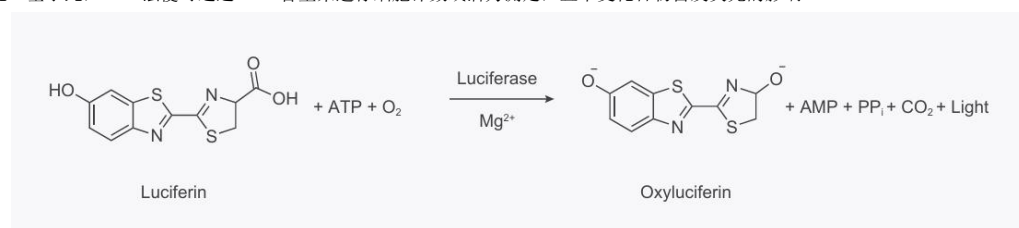
包装清单

Cat No.	组分	包装规格-5000T
MCK-0009	Cell-ATP Viability Detection Reagent	100 mL*5
	说明书	1 份

产品简介

ATP 发光法细胞活力检测试剂盒基于高灵敏度生物发光检测技术, 通过对 ATP 进行定量以测定培养物中活细胞数目及细胞活力。

ATP 是细胞新陈代谢的一个重要指标, 其与活细胞数目呈良好的线性关系, 是细胞活力检测的重要标志性分子。ATP 生物发光技术的原理为: 荧光素酶以荧光素、三磷酸腺苷 (ATP) 和 O_2 为底物, 在 Mg^{2+} 存在时, 可将化学能转化为光能; 在荧光素酶催化的发光反应中, ATP 在一定的浓度范围内, 其浓度与发光强度呈线性关系, 即在光信号与酶反应体系中, 发光值与 ATP 成正比, ATP 与活细胞数成正比。基于此, ATP 法便可通过 ATP 含量来进行细胞计数或活力测定, 且不受化合物自发发光的影响。



使用时, 只需将本试剂等体积添加至培养细胞中即可进行检测, 均质检测方案避免了同类检测产品使用时的细胞洗涤、培养基去除及多步加样等操作, 简便、快捷, 减少操作误差。与常用的 MTT、CCK8 法相比, ATP 法具有反应更迅速、灵敏度更高、线性范围更广、信号更稳定及便捷高效等优点。本品与常用的细胞培养基兼容, 如 RPMI1640、MEM、DMEM 和 Ham's F12, 也不受酚红和有机溶剂的影响, 误差小, 准确率高, 且适用于自动化高通量筛选, 为细胞增殖与毒性分析提供了更加高效、便捷的解决方案。

本产品具有以下一些特性:

1. 反应迅速: 将试剂与培养细胞等体积混合后, 反应 10 min 后可直接用于检测。
2. 节省样本: 单个检测反应所需细胞数量少; 能准确检测低于比色法/荧光法的检测低线的细胞数。
3. 稳定性好: 发光信号稳定。
4. 重复性好: 批量实验时, 重复误差较小。
5. 检测方案灵活: 适用于多种类型的多孔板; 可用发光检测仪或 CCD 成像设备记录数据; 少量与大量样本处理均适用。

保存条件

-20°C 避光保存, 有效期 1 年。

注意事项

1. 本产品中含有荧光素酶, 其活性对温度较为敏感, 反复冻融会导致其逐渐失活, 建议分装冻存, 避免反复冻融。
2. 本产品避免室温保存, 如需多次使用, 建议将试剂分装后冻存, 分装所用耗材应避免 ATP 污染。
3. 反复冻融时, 可能会导致试剂中出现少量沉淀, 可平衡至室温后观测沉淀溶解情况, 如仍有残留, 可离心后去除。
4. 若待测药物的溶剂含量较高, 荧光素酶反应可能会被干扰, 致化学发光信号受到影响, 可设置含有溶剂的细胞培养液的对照孔以排除此干扰。
5. 检测时需使用适合于细胞培养的白色或黑色的多孔板(96 孔板或 384 孔板), 普通透明多孔板的相邻孔之间可能会产生相互干扰。
6. 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
7. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明

荧光素酶的活性对温度较为敏感, 故在实验开始前, 应先将本试剂与细胞平衡至室温后再进行测定。多次使用时, 建议将本产品适当分装冻存。根据实验需求, 选择适用于化学发光检测的孔板用于本实验 (如适合细胞培养的白色或黑色多孔板), 以下以 96 孔板举例。

1. 细胞准备

接种细胞: 在 96 孔板中每孔接种 100 μ L 细胞, 确保每孔细胞数量在 5×10^4 以内。设置不含细胞的培养液孔作为阴性对照, 按照培养细胞的常规方法进行培养。

注: (1) 接种细胞数目因检测所用孔板不同存在差异, 如用 384 孔板, 每孔接种 25 μ L 细胞, 确保每孔细胞数量在 1×10^4 以内。

(2) 可根据实验目的设计实验方案, 如: 加入药物处理细胞, 应注意设置对照。若待测药物的溶剂含量较高, 荧光素酶反应可能会被干



扰,致化学发光信号受到影响,可设置含有溶剂的细胞培养液的对照孔以排除此干扰。(3)建议设置细胞浓度梯度,以确定 ATP 检测的条件。

2. 检测试剂的准备

按照 96 孔板每孔 100 μ L 的 Cell-ATP Viability Detection Reagent 的量 (384 孔板每孔 25 μ L 的 Cell-ATP Viability Detection Reagent 的量),即 $V_{\text{细胞}}: V_{\text{Cell-ATP Reagent}}=1:1$),取适量本产品,解冻后平衡至室温。

3. 细胞活力检测

(1)取出细胞培养板,室温平衡 10 min。

注:室温平衡通常不建议超过 30 min。

(2)向 96 孔板的每孔加入 100 μ L Cell-ATP Viability Detection Reagent (384 孔板每孔加入 25 μ L Cell-ATP Viability Detection Reagent)。

(3)室温振荡混匀 2 min,以促进细胞充分裂解。

(4)室温孵育 10 min,使发光信号趋于稳定。

(5)使用具有检测化学发光功能的多功能酶标仪进行化学发光测定,每个孔的检测时间一般为 0.25-1 s。

注:具体参数可根据仪器类型及检测灵敏度进行适当调整。

(6)根据化学发光读数直接计算细胞的相对活力,或根据 ATP 标准曲线计算出 ATP 的量以计算出细胞的相对活力。

注:检测效果可能会因细胞种类及生长状态不同而有所差异,对于一些 ATP 含量特别高的细胞,当细胞数量至 5×10^4 后可能不会再呈现明显的线性关系,但化学发光读数还是会继续升高。