

ATP BioLumi Cell Viability Assay Kit

ATP 荧光法细胞活力检测试剂盒

产品简介

ATP 是细胞内最重要的能量分子，可以用来衡量细胞新陈代谢水平，因此可通过 ATP 含量反应活细胞的数目。ATP 生物发光技术的原理是荧光素酶以荧光素、三磷酸腺苷 (ATP) 和 O_2 为底物，在 Mg^{2+} 存在时，将化学能转化为光能，因此在一定范围内，ATP 浓度与发光强度呈正比。基于这一原理，本试剂盒利用萤火虫荧光素酶 (Firefly luciferase) 催化底物——荧光素的转化，高效利用 ATP 的能量，发射出光子，发光信号可以反映 ATP 的量，而 ATP 的量可以反映细胞数目，从而达到检测目的。

本试剂盒提供的发光法细胞活力检测试剂线性范围广、灵敏度高、稳定性好：96 孔板中，在 5 个至 100000 个细胞范围内，迅速完成检测，仅需 10 min；无需洗涤细胞，也无需更换或去除培养液；半衰期长，具有极好的稳定性；相比于其他常见的细胞活力测定方法如 Galcein-AM、CCK-8 等，也更加简便快捷。

产品信息

货号	C331310E/C230102S/C230102M
规格	10 mL /100 mL/10×100 mL

储存条件

-25~-15°C 储存，有效期 1 年。建议分装保存，避免反复冻融。

注意事项

1. 荧光素酶活性对温度比较敏感，所以反应前细胞和检测试剂均需平衡至室温后再进行测定。请勿室温存放。
2. 检测试剂请混匀后使用。
3. 本试剂盒的检测试剂中含有荧光素酶，反复冻融会导致其逐渐失活。为取得良好的使用效果，第一次解冻后可适当分装保存，但需注意分装的容器不能有 ATP 污染。
4. 待测药物的溶剂含量较高时可能会干扰荧光素酶反应，从而影响化学发光信号。可以通过设置含有溶剂的细胞培养液对照孔排除溶剂的干扰。
5. 检测时须使用适合于细胞培养的白色或黑色的 96 孔板或 384 孔板。如果使用普通透明的 96 孔板或 384 孔板，相邻孔之间会产生相互干扰。
6. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
7. 本产品仅用于科研。

使用说明

1. 细胞培养

- 1) 使用适合进行化学发光检测的 96 孔板，每孔接种 100 μL 细胞（根据培养时间确定初始接种的细胞密度，检测时每孔细胞数量不宜超 5 万个），同时设置不含细胞的培养液的孔作为阴性对照，37°C，5% CO_2 培养细胞。也可以设置细胞的浓度梯度，以得到最佳的实验结果。根据需要在合适的时间加药处理细胞。

2. （可选）ATP 标准曲线的制作

把自备的 ATP 标准溶液用 PBS 稀释成适当的浓度梯度，96 孔板每孔加入 100 μL 的标准品。

3. 细胞活力检测

- 1) 融解冻存的发光法检测试剂，并平衡至室温（请勿在超过 25°C 以上环境进行融化，避免活性减弱）
- 2) 取出细胞培养板，室温放置 10–20 min，使培养板温度平衡至室温。
- 3) 96 孔板每孔加入 100 μL 检测试剂（384 孔板每孔 25 μL ）（由于孔的边缘效应，可能会导致发光信号不稳定，不建议在边缘铺板）。
- 4) 室温振荡 2–5 min，以促进细胞的裂解。
- 5) 不透明封板膜封板，室温避光放置 10 min，使发光信号达到最大。
- 6) 使用多功能酶标仪进行化学发光检测，检测波长 560 nm。根据仪器要求设置相应的参数，每孔的检测时间一般为 0.25–1 s，具体需根据仪器的检测灵敏度进行适当的调整。
- 7) 根据化学发光读数计算细胞的相对活力，或根据 ATP 标准曲线计算 ATP 含量从而得出细胞的相对活力。

【注】检测效果因细胞的种类不同而异，对于一些 ATP 含量特别高的细胞，在细胞数量达到 100000 以上可能会出现化学发光读数继续升高，但丧失线性关系。