

产品说明书

ATP Luminescent 细胞活力测定试剂盒

产品货号: A6103S, A6103L

产品规格: 100T, 500T (96 孔)

储存条件

-20°C 避光保存, 有效期见外包装。

产品介绍

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, 并与活细胞数目具有良好的线性关系, 因此, 可通过 ATP 含量反应活细胞的数目。本试剂盒借助 ATP 依赖的荧光素酶催化的荧光素发光反应, 通过化学发光信号测定细胞内 ATP 含量, 从而检测细胞活力或定量检测活细胞数目, 灵敏度高、线性范围宽。本试剂盒兼容少量样品检测以及大量样品的高通量筛选检测。

本试剂盒提供的发光法细胞活力检测试剂线性范围宽、灵敏度高、稳定性好。96 孔板中, 在 100 个至 100,000 个细胞范围内有良好的线性关系, 但不同细胞的检测数量上限会有不同。此外, 操作简单, 试剂盒中提供的检测试剂为即用型, 读数稳定, 检测速度快, 完成检测仅需约 10 min, 无需洗涤细胞, 也无需更换或去除培养液。相比于其他常见的细胞活力测定方法, 如 Calcein-AM、CCK-8 等, 发光法细胞活力检测更加简单快捷。

使用方法

1. 细胞培养: 使用适合进行化学发光检测的 96 孔板 (推荐使用孔和孔之间不透光的 96 孔白板或黑板), 每孔接种 100 μ L 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过 10 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% CO₂ 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 μ L 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 (或 22°C 恒温水浴平衡);
- (2) 取出细胞培养板, 室温平衡 10 min (或 22°C 恒温水浴平衡, 时间不宜过长, 尽量控制在 30 min 以内);
- (3) 96 孔板每孔加入 100 μ L 检测试剂 (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 2-10 min, 以促进细胞的裂解;

注: 裂解后样品中 ATP 在室温不太稳定, 建议在 4°C 或者冰上操作。

- (5) 室温放置 10 min, 使发光信号趋于稳定;
- (6) 使用具有检测化学发光功能的仪器, 如多功能酶标仪。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 100,000 以上可能会出现化学发光读数继续升高, 但丧失线性关系。

注意事项

1. 使用前请将产品瞬时离心至管底, 再进行后续实验。
2. 试剂中含有萤光素酶, 反复冻融会影响其活性。建议分装后置于-20°C避光保存。
3. 试剂及细胞样品使用前均需平衡至室温, 以避免酶催化效果的影响。
4. 药物含量较高时可能会干扰萤光素酶反应, 从而影响化学发光信号。建议设置含有药物的细胞培养液对照孔以排除溶剂的干扰。

