ATP 发光法细胞活力检测试剂盒

Cell-ATP Viability Detection Kit

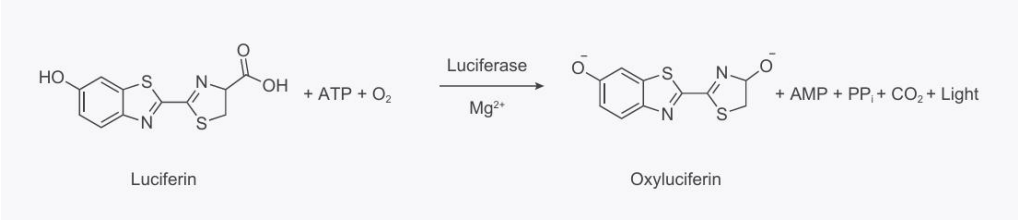
包装清单

Cat No.	组分	包装规格-100T
MCK-0009	Cell-ATP Viability Detection Reagent	10 mL
	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 呈正比，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，且不受化合物自发荧光的影响。



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℃避光保存，有效期一年。

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 μL 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 μL 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 100μL 的 Cell-ATP Viability Detection Reagent 的量 (384 孔板每孔 25μL 的 Cell-ATP Viability Detection Reagent 的量)，即 $V_{细胞}$：$V_{Cell\text{-}ATP\ Reagent}$= 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 100μL Cell-ATP Viability Detection Reagent (384 孔板每孔加入 25μL 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。