

# CellTiter-ATP Luminescent Cell Viability Assay Kit {ATP 发光法细胞活力检测试剂盒}

货号: BR00088

规格: 10 ml

## ◆ 产品描述

ATP 发光法细胞活力检测试剂盒是一种基于荧光素酶系统的细胞活力检测试剂, 反应原理为荧光素酶以荧光素、三磷酸腺苷 (ATP) 和  $O_2$  为底物, 在  $Mg^{2+}$  的存在下, 将化学能转化为光能。在细胞培养物中加入本产品使细胞裂解, 释放出 ATP, 发出稳定的“光”信号, 其发光强度与 ATP 的量, 即活细胞数量在一定范围内成正比, 从而对活细胞数目进行定量检测。本产品具有灵敏度高、操作便捷、反应迅速等特点。

## ◆ 产品组分

| 产品编号    | 产品名称   | 组分体积  | 保存条件            |
|---------|--|-------|-----------------|
| BR00088 | CellTiter-ATP Luminescent Cell Viability Assay Kit | 10 ml | -25 ~ -15°C, 避光 |

## ◆ 保质期

干冰或-20°C运输。-25 ~ -15°C避光保存, 有效期 12 个月。

## ◆ 产品应用

细胞活力检测。

## ◆ 自备材料

ATP 标准溶液, 移液器或排枪, 白色不透光或黑色细胞培养板, 全波长酶标仪。

## ◆ 注意事项

1. 荧光素酶的活性对温度比较敏感, 因此, 反应前细胞和检测试剂均需平衡至室温后再进行测定。
2. 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。为取得良好的实验效果, 建议第一次解冻后可进行分装保存, 但需注意分装的管材不能有 ATP 污染。
3. 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。
4. 检测时须使用适合于细胞培养的白色或黑色的 96 孔板。如果使用普通透明的 96 孔板, 相邻孔之间会产生相互干扰。

## ◆ 实验流程

### 1. 细胞样本的准备

(1) 使用适合于细胞培养的白色或黑色的 96 孔板，每孔接种 100  $\mu$ l 细胞悬液，并确保检测时每孔的细胞数量控制在  $5 \times 10^4$  个以内。同时设置不含细胞的培养液的孔作为空白对照。

(2) 根据实际的实验设计需求，加入药物或样本处理细胞。此外，如有必要，也可设置不同的细胞浓度梯度进行测试。

## 2. 检测试剂的准备

室温解冻检测试剂，第一次解冻试剂时，为避免后续反复冻融对产品性能的影响，建议室温完全解冻后，均匀分装保存。

**注：**本产品使用前需室温完全解冻并混匀，平衡至室温后再使用。

## 3. 标准曲线的制作（可选）

(1) 取自备的 ATP 标准溶液用 1×PBS 稀释成 0、10、30、100、300、1000、3000、10000 nM 的浓度梯度，于 96 孔白板或黑板细胞培养板中，每孔加入 100  $\mu$ l 的标准品溶液（设置 3 个复孔）。

(2) 每孔加入 100  $\mu$ l 的细胞活力检测工作液，室温孵育 10 min。置于多功能酶标仪检测化学发光值，程序设置选择 luminescence。

(3) 以 ATP 标准品浓度为横坐标，化学发光读值为纵坐标，绘制标准曲线。

## 4. 细胞活力检测

(1) 取出细胞培养板，室温平衡 10 min（一般不超过 30 min）。

(2) 96 孔板每孔加入 100  $\mu$ l 的细胞活力检测工作液，置于多功能酶标仪水平震荡 2 min，以促进细胞裂解。

(3) 室温孵育 10 min，置于多功能酶标仪检测化学发光值，程序设置选择 luminescence。

(4) 根据化学发光读值直接衡量细胞的相对活力，或根据 ATP 标准曲线计算出 ATP 的含量从而计算出细胞的相对活力。