

TransDetect[®] Luminescent Cell Viability Detection Kit 发光法细胞活性检测试剂盒

使用前请仔细阅读说明书

目录号: FC401

版本号: Version 1.0

保存: -20°C避光保存一年。

产品说明

ATP (三磷酸腺苷)是细胞内重要的能量分子,可以用来衡量细胞的代谢活性,并与活细胞数目具有良好的线性关系。因此,可通过ATP含量反映活细胞的数目。本试剂盒借助于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的含量,从而检测细胞活力或定量检测活细胞数目(图1)。

本产品为单一组分的即用型试剂,将等体积的试剂直接加入到细胞培养物中混匀,10分钟即可进行检测,简单快速。本产品灵敏度高,线性范围宽,在5个至10万个细胞范围内有良好的线性关系。本产品产生的“辉光型”发光信号稳定,在反应开始后的1小时内下降不超过15%,半衰期可达3小时,兼容少量样品检测及大量样品的高通量筛选检测。

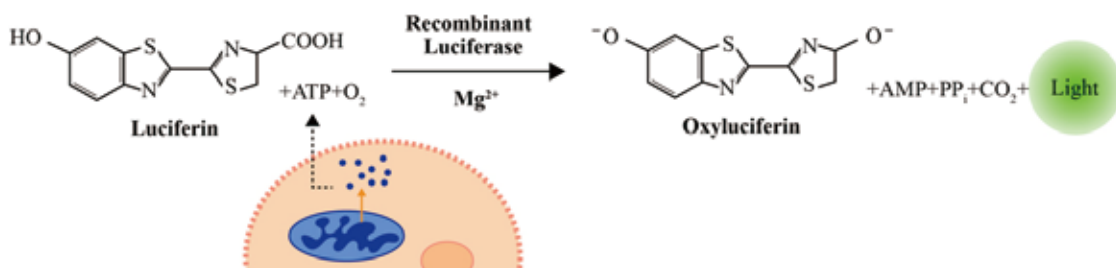


图1. 发光法细胞活性检测原理示意图

试剂盒组成

Component	FC401-01	FC401-02
Cell Viability Reaction Buffer	10 ml	100 ml

操作步骤

1、试剂准备

(1) 融化试剂: 将本产品置于2~8°C或室温融化。

注意: 融化后的试剂可在2~8°C保存60天或室温保存7天,保持85%以上活性。

(2) 未使用完的试剂长期不用建议分装后-20°C保存。

(3) 使用前需平衡至室温,并上下颠倒使溶液混匀。

2、检测步骤

(1) 将待检测细胞从培养箱中取出,置于室温至少15分钟,使得培养板完全平衡至室温。

(2) 加入与待测细胞培养物体积相同的已平衡至室温的Cell Viability Reaction Buffer。如待测细胞培养于96孔板中,培养体积为100 μl,则每孔加入100 μl的Cell Viability Reaction Buffer。注意:96孔板检测体系推荐不超过100,000个细胞每孔。因细胞种类不同,检测效果会有所不同。对于一些ATP含量特别高的细胞,在细胞数量达到100,000个后,化学发光值与细胞数可能会不呈线性关系,但是读数依然升高。

(3) 室温水平振荡混匀3分钟,使细胞充分裂解。室温静置5~10分钟以使发光信号稳定。

(4) 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检测。请根据仪器要求设置相应的参数。



注意事项

- 1、多孔板：推荐使用白色或黑色不透明孔板进行检测，不同类型的孔板对检测结果有不同的影响。黑色孔板各检测孔间的影响较小，但是对发光信号的光强吸收较高；白色孔板各检测孔间有一定的影响，但是发光信号的光强几乎不会损失；透明孔板有利于细胞培养过程中的细胞状态观察，但是各检测孔间的发光信号干扰很大。可根据实验的不同需要选择合适的孔板进行细胞培养与检测。
- 2、温度：温度对荧光素酶-荧光素反应速率具有较大的影响。所以在检测前需要将待检测细胞培养体系与所用试剂完全平衡至相同的室温温度，以保证检测结果的一致性。对于高通量检测需求，多孔板的培养体系，在操作时需要相应延长温度平衡时间，堆叠放置的培养孔板需要更长时间的平衡，未充分平衡的孔间检测的一致性会受到影响，导致检测结果不可信。
- 3、待测药物的溶剂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。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、环境污染：环境中的微生物或环境中的ATP污染会引入外源ATP，从而引起本底信号升高。建议操作时佩戴口罩和乳胶手套，并注意实验台面整洁，谨慎开盖，避免外源ATP污染检测体系。

附图：活细胞数与发光的线性关系

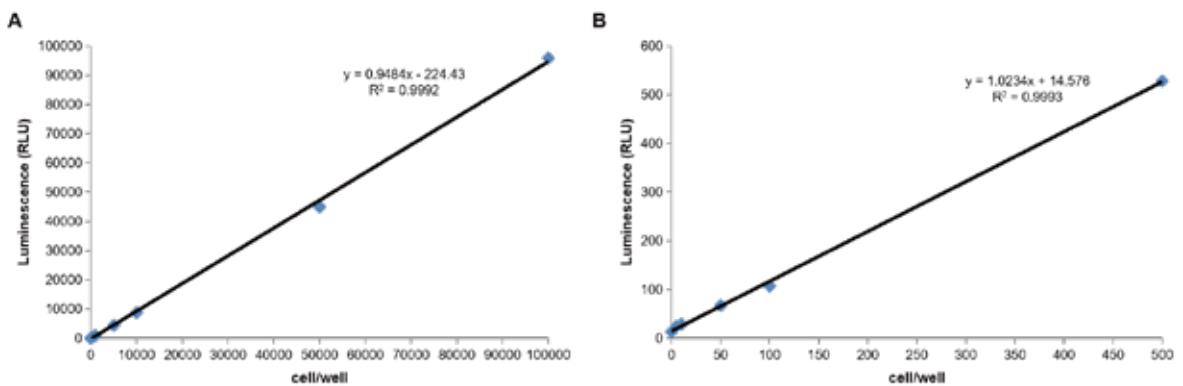


图 2. 活细胞数与发光的线性关系

使用含有10% FBS的RPMI 1640培养基连续倍比稀释Jurkat细胞，制备不同密度的细胞悬液。加入100 μl细胞悬液于96孔板中，加入等体积的Cell Viability Reaction Buffer，静置10分钟后检测发光。图2A：0~100,000个细胞数与发光强度呈良好线性。图2B：0~500个细胞数与发光强度呈良好线性。

本产品仅供研究，不用于临床诊断。

版本号: V1.0-202307

服务电话 +86-10-57815020

服务邮箱 complaints@transgen.com

