

ATP发光法类器官活力检测试剂盒

CellTiter- CELLCOOK-Organoid Viability Assay Kit

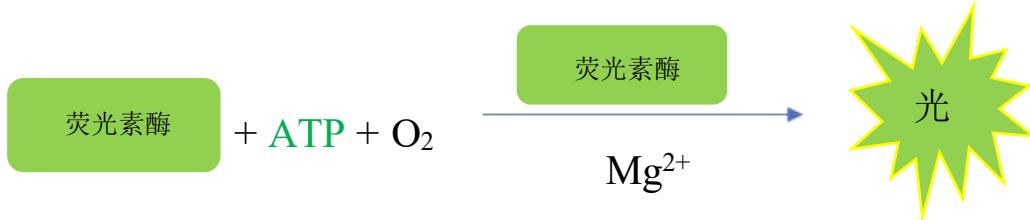
产品货号：货号:ORP009-S(10ml)/ ORP009(100ml)

产品组成	ORP009-S	ORP009	ORP009-S*10
CellTiter-CELLCOOK-Organoid	10 ml	100 ml	10x10 ml
说明书	1 份	1 份	1 份

产品简介

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 O₂ 为底物，在Mg²⁺ 存在时，能将化学能转化为光能。ATP 既是荧光素酶催化发光的必需底物，又是所有生物生命活动的能量来源。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。

本试剂盒采用生物发光(bioluminescent)法，利用 Firefly luciferase(萤火虫荧光素酶)催化底物——荧光素的转化，高效利用ATP 的能量，发射出光子。发光信号与存在的ATP 量呈正比，而ATP 与存在于培养基中的细胞数目直接呈正比。



本试剂盒为多孔板而设计，是进行自动化高通量筛选(HTS)，类器官或细胞增殖和毒性分析的理想选择。均质检测步骤就是将单一试剂直接加入类器官或细胞培养液中，无需去胶，洗涤细胞、去除培养基或进行多步加样操作。

均质检测的"加样-混合-检测"的操作方案使得类器官或细胞裂解和产生的发光信号与存在的ATP 量成正比，而ATP 量直接与培养物中的细胞数量成正比。独特的均质检测方案避免了那些需要多个步骤的ATP 检测方法可能会引入的误差。

CellTiter-JFKR-Organoid 发光法类器官活力检测试剂盒产品特点：

- 1) **简化了细胞活性检测步骤：** 均质的"加样-混合-检测"方案减少了其它同类检测所需的操作步骤。
- 2) **类器官或细胞用量更少：** 可准确地检测到低于常用的比色法和荧光法的检测低限的类器官或细胞数。减少了每个检测反应所需的类器官或细胞数。
- 3) **迅速获得结果：** 加入试剂后 10 分钟就能获得数据。
- 4) **可自行选择检测方案：** 可用于多种类型的多孔板操作。可用发光检测仪或CCD 成像设备记录数据。
- 5) **可连续处理培养板：** 发光信号稳定，样品可进行批量处理。

操作步骤

1. 类器官或细胞的准备：

使用适合进行化学发光检测的 96 孔板，每孔接种 5ul-10ul 类器官或 100 μ l 细胞（如使用 384 孔板，每孔接种 2.5 μ l-4 μ l 类器官或 25 μ l 细胞，具体用量视不同类型的 384 孔板而定），并确保检测时每孔的细胞数量在 5 万个以内（如使用 384 孔板宜控制在 1 万个以内），同时设置不含类器官或细胞的培养液孔作为阴性对照，按照类器官或细胞培养的常规方法培养细胞。如有需要，可加入药物处理细胞。此外，如有必要，也可以设置细胞的浓度梯度，以便后续确定试剂盒的使用效果。

2. 检测试剂的准备：

2.1 试剂准备

10 mL kit：每瓶冻干粉添加 10ml buffer 混匀避光待用

- a. 溶解 CellTiter-JFKR-Organoid 发光法检测试剂，如有必要可适当分装该试剂。
- b. 按照 96 孔板每孔接种 5ul-10ul 类器官或 100 μ l 细胞（384 孔板每孔接种 2.5 μ l-4 μ l 类器官或 25 μ l 细胞）的量，取适量 CellTiter-JFKR-Organoid 发光法检测试剂，平衡至室温。

3. 类器官或细胞活力检测：

- a. 取出细胞培养板在室温平衡 10 分钟（通常不宜超过 30 分钟）。
- b. 96 孔板每孔加入 100 μ l CellTiter-JFKRCell 发光法检测试剂（384 孔板每孔 25 μ l）。c. 室温振荡 2 分钟，以促进类器官或细胞的裂解。
- d. 室温（约 25°C）孵育 10 分钟，使发光信号趋于稳定。
- e. 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，每个孔的检测时间一般为 0.25-1 秒或更长时间，具体需根据仪器的检测灵敏度进行适当的调整。
- f. 根据化学发光读数直接计算类器官或细胞的相对活力，或根据 ATP 标准曲线计算出 ATP 的量从而计算出细胞的相对活力。

注：检测效果因类器官或细胞的种类不同而有所不同，对于一些 ATP 含量特别高的细胞，在细胞数量达到 50,000 个后可能会不呈线性相关，但化学发光读数还是会继续升高。

保存条件

溶解后尽快使用，-80 度保存一个月。

注意事项

- 1、荧光素酶的活性对温度比较敏感，所以反应前类器官或细胞和检测试剂均需平衡至室温后再进行测定。检测试剂请混匀后使用。
- 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。为取得良好的使用效果，第一次溶解后后可适当分装保存，但需注意分装的容器不能有 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类器官或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。
- 5、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。
- 6、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

运用范围：

For Laboratory Research Use Only. Not For Use In Diagnostic Procedures.

第 2 页 共 2 页