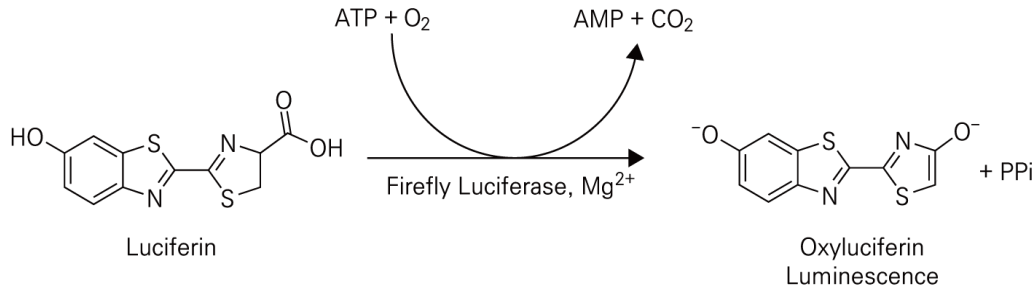


Quanti-ATP™ Luciferase Cell Viability Assay Kit (Luminometric)

QA-0100/1000, 100/1000 tests

제품 원리



BIOMAX사 Quanti-ATP™ Luciferase Cell Viability Assay Kit (Luminometric)는 D-Luciferin이 산소와 ATP 존재 하에 Firefly Luciferase와 Mg²⁺에 의해 Oxyluciferin이 되면서 빛을 발산하는 원리를 이용합니다. 세포에서 방출되는 ATP의 양은 세포의 에너지 대사량에 비례하므로 이를 Luminometer로 측정하여 대사 중인 세포 활성을 확인할 수 있습니다.

제품의 구성 및 보관 조건

Components	100 tests	1000 tests	Storage
D-Luciferin	150 µL	1.5 mL	-20 °C
ATP Assay Buffer	10 mL	100 mL	
Luciferase	10 µL	100 µL	
Lysis Buffer	1 mL	10 mL	
ATP Standard (2 µM)	200 µL	1.5 mL	

* 개봉하지 않은 제품은 빛을 차단한 상태에서 -20 °C 보관 시 약 1년간 안정적입니다.

검사 필요 장비 및 소모품

- ▶ Luminometric microplate reader (Firefly 570 nm Filter)
- ▶ 96-well Microplate (White, Flat bottom)
- ▶ Pipette & Sterile tips
- ▶ 8 or 12 Channel micropipette
- ▶ Reservoir
- ▶ Microtube
- ▶ PBS
- ▶ Ice bucket

실험 전 준비 사항 및 보관 방법

- ▶ Vial 뚜껑 내부에 시약이 묻어 있을 수 있으니 개봉 전 원심 분리합니다.
- ▶ 빛이 차단된 상태로 보관합니다.
- ▶ Luciferase는 얼음 위(on ice)에 두고 사용합니다.
- ▶ 사용하기 전 모든 재료와 준비된 시약을 실온으로 맞춥니다.
- ▶ 직사광선이나 밝은 형광등을 피하고 은은한 조명 아래서 작업합니다. 밝은 빛은 배경 노이즈를 높일 수 있습니다.

Standard preparation (Optional)

ATP 수치 정량화가 필요할 경우 진행합니다.

Standard 희석 시 샘플에 사용한 것과 동일한 용액을 희석액으로 사용할 것을 권장합니다.

ATP Standard : ATP Standard (2 μ M) 100 μ L와 PBS 또는 cell culture media 900 μ L를 혼합해 **200 nM ATP standard**를 만듭니다. 희석한 ATP standard를 아래 표와 같이 microtube에 1/2씩 Serial dilution하여 ATP standard solution을 만듭니다. PBS 또는 cell culture media만 있는 well을 Blank로 설정합니다.

No.	Vol. of ATP standard Sol. (μ L)	Vol. of PBS or cell culture media (μ L)	Final STD Concentration in well (nM)*	Final STD Amount in well (pmol/well)
1	1000 of 200 nM ATP Standard	0	100	20
2	500 of No. 1	500	50	10
3	500 of No. 2	500	25	5
4	500 of No. 3	500	12.5	2.5
5	500 of No. 4	500	6.25	1.25
6	500 of No. 5	500	3.125	0.625
7	500 of No. 6	500	1.5625	0.3125
Blank	0	500	0	0

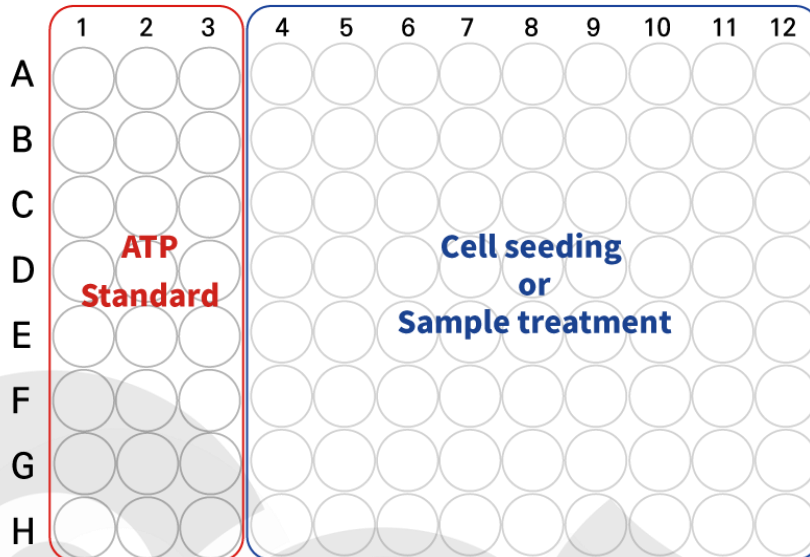
* Well 내 Working Solution 추가(100 μ L)에 따른 1/2 최종 희석 농도임.

실험 과정

ATP의 함량은 세포의 종류에 따라 차이가 있으므로 보다 정확한 실험 결과를 얻기 위해서는 예비실험을 통하여 최적 세포의 수와 반응 시간을 결정하는 것이 좋습니다.

* 아래 과정은 10 well 사용 가능한 부피(volume) 입니다. 실험에 필요한 양만큼 만들어 사용합니다.

* Duplicate 또는 triplicate로 진행합니다.



① 96 well white plate 에 mammalian cells 를 90 μ L/well 로 준비하고 적절하게 세포를 처리한 후 배양합니다.

참고 : 최적 세포농도는 세포 종류에 따라 달라집니다. 세포 적정을 통해 최적의 접종량을 미리 결정합니다.

② 배양 완료된 Plate 를 실온에서 약 30 분 동안 두어 평형 상태에 도달하도록 합니다.

③ ATP Assay Buffer 1 mL 과 Luciferase 1 μ L 를 혼합하여 luciferase solution 을 만들어 부드럽게 혼합합니다.

④ Luciferase solution 985 μ L 와 D-Luciferin 15 μ L 를 혼합하여 ATP working solution 을 만들어 부드럽게 혼합합니다.

⑤ 실온으로 맞춰진 배양이 완료된 Plate 의 cells 에 Lysis Buffer 를 10 μ L 씩 처리하여 pipetting 합니다.

⑥ 96-well Microplate standard well 에 준비한 ATP standard 를 100 μ L 씩 분주합니다.

⑦ ATP working solution 을 standard well 과 cell 이 배양된 well 에 100 μ L 씩 분주하고 빛을 차단한 상태로 10 분간 두어 발광 신호를 안정화합니다.

⑧ Luminometric microplate reader 를 이용하여 측정합니다.

주의 사항

- ▶ Luciferase는 점도가 있으므로 최대한 표면에서 Pipetting 합니다.
- ▶ Lysis Buffer는 bubble을 유발하므로 조심히 Pipetting 합니다.
- ▶ ATP working solution은 처리 후 반응이 매우 빠르므로 8 or 12 Channel micropipette을 사용하여 분주합니다.
- ▶ Mammalian cells 이외의 샘플(Bacterial cell 등)에 적용할 경우 당사로 문의 바랍니다.

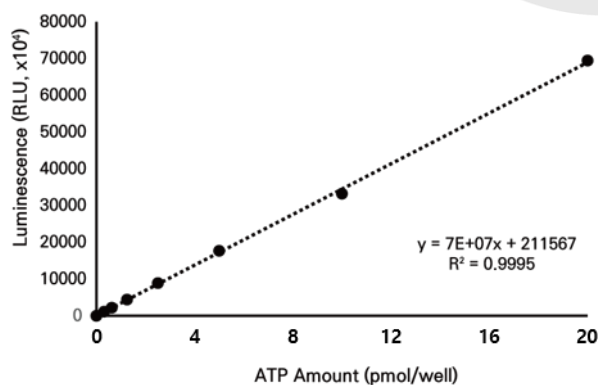
결과 분석

ATP 표준물질을 사용하지 않은 분석

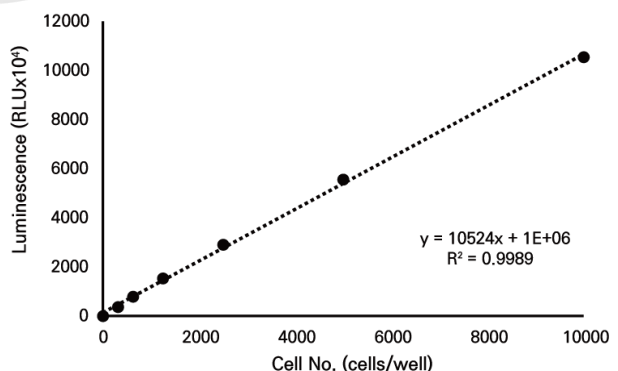
- ① 각 sample에 대해 반복 측정된 값들의 평균값을 구합니다.
- ② 각 샘플 측정값에서 배경 값(Blank well)을 뺍니다.
- ③ ATP 수준을 양성 대조군 대비 상대적 백분율로 나타냅니다.

ATP 표준을 이용한 분석

- ① 각 표준물질과 각 시료에 대해 반복 측정된 값들의 평균값을 구합니다.
- ② 모든 표준 및 시료 측정값에서 배경값(Blank well)의 평균 발광값을 뺍니다. 이것이 보정된 발광값입니다.
- ③ 각 표준 시료에 대한 보정된 발광값을 최종 값의 함수로 그래프로 나타냅니다.
- ④ 이 점들을 통과하는 가장 매끄러운 곡선을 그려 표준곡선의 추세선과 추세선의 방정식을 구합니다.
- ⑤ 표준 곡선 추세선의 방정식을 이용하여 ATP 농도를 계산합니다.



ATP Standard curve



Viability of HeLa cell

Related products

QM1000/2500/5000/10000

BCT-LDHP500/1000

BCV-R1000/3000

BCV-F500/1000

BDA-1000

BM-ATP-100

WST-8 Cell Counting Kit (Colorimetric)

Quanti-LDH™ PLUS Cytotoxicity Assay Kit (Colorimetric)

MAX-Blue™ Resazurin Cell Viability Assay Kit (Colorimetric/Fluorometric)

MAX-Fluor™ Calcein-AM Cell Viability Assay Kit (Fluorometric)

MAX-View™ Live/Dead Cell Staining Kit (Fluorometric)

PicoSens™ ATP Assay Kit

*** 안전한 사용을 위해 유해물질 정보는 MSDS를 참조하십시오.**

Homepage: www.biomax.comShopping mall: www.biomaxmall.comE-mail: info@scgbiomax.com

Tel: 02-3296-3158 / Fax: 02-973-2858

(주) 바이오맥스 : 경기 구리시 갈매순환로166번길 46, 금강펜테리움 IX타워 CORE-C, 7층

Note