改良型 ATP 含量检测试剂盒

（本试剂盒仅供科研使用）

产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0701	改良型 ATP 含量检测试剂盒	100T

产品内容

名称	规格	储存条件
检测试剂 A（100×）	0.1mL	-20℃
检测试剂 B（10×）	1mL	-20℃
检测试剂 C（10×）	3mL	-20℃
检测试剂 D（100×）	0.1mL	-20℃
ATP 标准液（0.5mM）	0.25mL	-20℃
ATP 检测缓冲液（20×）	1.8mL	-20℃

一、产品说明

腺苷-5-三磷酸(ATP)是细胞中的能量分子，在细胞的各种生理、病理过程中至关重要。ATP 在活细胞的光合作用和细胞呼吸过程中产生，并在生物合成反应、运动和细胞分裂等细胞过程中消耗。

翼飞雪改良型 ATP 检测试剂盒可快速检测细胞内 ATP 含量。原理为 ATP 在荧光素酶(Firefy Luciferase)的作用下与底物荧光素(Luciferin)反应，伴随化学发光。该反应特异性高，是目前最精确的 ATP 检测手段。当荧光素酶和荧光素底物均过量时，在一定浓度范围内发光强度与 ATP 浓度成正比，通过测定发光强度来检测样品中 ATP 浓度。

本试剂盒适用于细胞、组织和其他生物样本中的 ATP 检测。100 T 至少可以检测 100 个样品（96 微孔板）。

二、工作液准备

1、1×ATP 检测缓冲液的配制：提前将待用试剂于冰上解冻，按照每个样品或标准品 100μL ATP 检测缓冲液，取适量 ATP 检测缓冲液（20×）用超纯水稀释 20 倍，配制成 1×ATP 检测缓冲液，置于冰上待用。

2、1×裂解液的配制：取适量检测试剂 C（10×），用 1×ATP 检测缓冲液稀释 10 倍，配制成 1×裂解液。

3、ATP 标准溶液的配制：提前将待用试剂于冰上解冻，用 1×裂解液梯度稀释 ATP 标准溶液。初次检测可设置浓度范围为 1-5000nM（如 10、50、100、200、500、2000、5000nM）。后续实验中可以根据样品中 ATP 浓度对标准品的浓度范围进行适当调整。

4、ATP 检测工作液的配制：参考下表配制 ATP 检测工作液（可根据实际情况进行等比例缩小或放大）：

组分	体积（μL）
检测试剂 A（100×）	40
检测试剂 B（10×）	400
检测试剂 D（100×）	40

1×ATP 检测缓冲液	3520
总体积	4000

三、样品制备

1、贴壁细胞：

A. 吸除培养基，按照 6 孔板加入 150-200μL 裂解液裂解细胞（可使用移液器吹吸裂解液，使细胞充分裂解）。

B. 4℃ 12000g 离心 5min，取上清即为待测样品。

2、悬浮细胞：

A. 离心收集细胞，按照 6 孔板加入 200μL 裂解液裂解细胞（可使用移液器吹吸裂解液，使细胞充分裂解）。

B. 4℃ 12000g 离心 5min，取上清即为待测样品。

3、组织：

A. 按照每 20mg 组织加入 100-200μL 裂解液，用玻璃匀浆仪或其他匀浆仪进行匀浆，使组织完全裂解。

B. 4℃ 12000g 离心 5min，取上清即为待测样品。

四、测定步骤（以 96 孔板为例）

1、向所有检测孔中加入 100μL ATP 检测工作液，室温孵育 3-5min，以消耗本底 ATP。

2、将化学发光仪（Luminometer）或者多功能酶标仪设置好检测条件，向检测孔中加入 10μL 待测样品或标准品，震荡 5s 充分混匀，立即进行测定读值 RLU(相对光单位，Relative Light Unit, RLU)。

3、绘制标准曲线: 以 ATP 浓度(nM)为横坐标， RLU 为纵坐标绘制标准曲线。

4、根据标准曲线计算样本中 ATP 的含量。

五、注意事项

1、 样品体积可根据样品中 ATP 的含量在 10-50μL 范围内调整，此时标准品体积需同步调整，与待测样品体积保持一致。 本试剂盒在 1nM-5000nM 标准品体系中有良好的线性关系。

2、 如果待测样品中 ATP 含量过高，可用 1×ATP 检测缓冲液稀释后再进行检测。

3、 也可以通过 BCA 或者 Bradford 法检测样品中蛋白浓度，并以蛋白含量对 ATP 含量进行归一化，最终结果可表示为 ATP 含量（nmoL ATP/mg 蛋白）。

4、 ATP 检测试剂中有荧光素酶 (Firefly Luciferase)蛋白制品，冻融会使其失活，应避免反复冻融，建议 ATP 检测试剂稀释后一次性用完。

5、 ATP 不稳定，裂解后样品需在 4 ° C 或冰上操作。ATP 在冰上可稳定 4-6h。

6、 本试剂盒需配套使用化学发光仪，如果没有可选择液闪仪检测，检测灵敏度取决于液闪仪的灵敏度和精确度。 使用化学发光的多功能酶标仪时，建议配套不透光的 96 孔白板或黑板。

7、 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。

8、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。