

## 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
试剂一	100 $\mu$ L (100 $\times$ )	-20 $^{\circ}$ C
试剂二	1mL (10 $\times$ )	-20 $^{\circ}$ C
试剂三	3mL (10 $\times$ )	-20 $^{\circ}$ C
试剂四	100 $\mu$ L (100 $\times$ )	-20 $^{\circ}$ C
ATP 标准液	250 $\mu$ L (0.5mM)	-20 $^{\circ}$ C
ATP 检测缓冲液	1.8mL (20 $\times$ )	-20 $^{\circ}$ C

1、ATP 检测工作液的配置: 分别吸取 40 $\mu$ L 试剂一、400 $\mu$ L 试剂二、40 $\mu$ L 试剂四、3520 $\mu$ L 检测缓冲液, 充分混匀, 配置成 4mL 检测工作液(可根据实际情况进行等倍放大)。

2、1 $\times$ ATP 检测缓冲液的配置: 提前将待用试剂冰上解冻, 按照每个样品或标准品 100 $\mu$ L ATP 检测工作液, 取适量 ATP 检测缓冲液(20 $\times$ )用超纯水稀释 20 倍, 配置成 1 $\times$ ATP 检测缓冲液, 置于冰上待用。

3、裂解液的配置: 取适量试剂三(10 $\times$ )用 1 $\times$ ATP 检测缓冲液稀释 10 倍, 配置成 1 $\times$ 裂解液。

4、标准溶液的制备: 提前将待用试剂置于冰上解冻, 用裂解液稀释 ATP 标准溶液稀释成适当的浓度梯度。初次检测可设置浓度范围为 1-5,000nM(如 0.01 $\mu$ M, 0.03 $\mu$ M, 0.1 $\mu$ M, 0.3 $\mu$ M, 1 $\mu$ M, 3 $\mu$ M, 10 $\mu$ M)。在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。

### 一、产品说明

翼飞雪改良型 ATP 含量检测试剂盒, 提供了一种简便的细胞、组织、其他生物样本中 ATP 含量检测的方法。试剂盒在 1nM-5,000 nM 范围内有良好的检测灵敏度, 线性范围宽。检测过程简单快速, 结果稳定可靠, 可在 30-60min 内检测完毕。

ATP 广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中, 是生物能量通货, 能荷是描述细胞能量代谢状态的主要参数。测定 ATP 含量并且计算能荷, 能够反映能量代谢状态。

ATP 在荧光素酶 (Firefly Luciferase) 的作用下与底物荧光素 (Luciferin) 反应产生荧光。当荧光素酶和底物荧光素均过量时, 在一定浓度范围内荧光强度与 ATP 浓度成正比, 通过测定荧光强度检测样品中 ATP 浓度。

## 二、样品准备

- 1、组织:称取 20mg 组织样品,加入 100 $\mu$ L-200 $\mu$ L 裂解液,冰浴匀浆使组织完全裂解,12000g 4 $^{\circ}$ C 离心 5min, 取上清, 置冰上待测。
- 2、贴壁细胞:去培养液,按照 6 孔板(细胞数量:200-500 万)每孔加入 150-200 $\mu$ L 裂解液(约 1/10 培养液体积)裂解细胞(可使用移液器反复吹吸裂解液, 使细胞充分裂解)。12000g 4 $^{\circ}$ C 离心 5min, 取上清, 置冰上待测。
- 3、悬浮细胞:离心收集细胞,按照 6 孔板(细胞数量:200-500 万)每孔加入 200 $\mu$ L 裂解液(约 1/10 培养液体积)裂解细胞(可使用移液器反复吹吸裂解液, 使细胞充分裂解)。12000g 4 $^{\circ}$ C 离心 5min, 取上清, 置冰上待测。

## 三、测定步骤

- 1、向所有检测孔中加入 100 $\mu$ L ATP 检测工作液, 室温孵育 3-5min, 消耗本底 ATP。
- 2、将化学发光仪或者多功能酶标仪设置好检测条件, 向检测孔中加入 10 $\mu$ L 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。

## 四、注意事项

- 1、样品体积可根据样品中 ATP 的含量在 10-100 $\mu$ L 范围内调整, 但需保持标准品体积与待测样品体积一致。
- 2、如果待测样品中 ATP 含量过高, 可用 1 $\times$ ATP 检测缓冲液稀释后再进行检测。
- 3、本试剂盒在 1-5000nM 标准品体系中有良好的线性关系。
- 4、ATP 检测试剂中有荧光素酶 (Firefly Luciferase), 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 $^{\circ}$ C 或冰上操作。ATP 在冰上可稳定 6h。
- 6、本试剂盒需配套使用化学发光仪(检测荧光素酶报告基因的仪器), 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。
- 7、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。
- 8、如果检测样品中 ATP 含量水平远低于预期, 裂解后可取部分样品煮沸 2min 充分释放 ATP 再离心进行后续检测。
- 9、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。
- 10、为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。