

# ATP 检测试剂盒(1nM)

ATP Assay Kit

## 使用说明书

版本号: 241010

货号及规格:

目录编号	包装规格
C232-01	200T

产品组成:

组分编号	试剂盒组分	C232-01(200T)
C232-1	ATP 标准溶液(0.5mM)	100uL
C232-2	ATP 检测试剂	500uL*4
C232-3	ATP 检测试剂稀释液	20mL
C232-4	ATP 检测裂解液	100mL

**储存条件:** 冰块运输, -20℃保存, 保质期 6 个月。ATP 检测试剂需避光保存。

**产品介绍:**

三磷酸腺苷(Adenosine 5'-triphosphate, ATP)是生物体内能量转换最基本的载体, 其含量的变化直接关系到各器官的能量代谢。作为最重要的能量分子, ATP 在细胞的各种生理、病理过程中起着重要作用。ATP 水平的改变, 会影响细胞的功能。通常细胞在凋亡、坏死或处于一些毒性状态下, ATP 水平会下降; 而高葡萄糖刺激等可上调某些细胞的细胞内 ATP 水平。通常 ATP 水平的下降表明线粒体的功能受损或下降, 在细胞凋亡时 ATP 水平的下降通常和线粒体的膜电位下降同时发生。

本试剂盒根据萤火虫荧光素酶(Firefly Luciferase)催化荧光素产生荧光时需要 ATP 提供能量研制而成。当萤火虫荧光素酶和荧光素都过量时, 在一定的浓度范围内荧光的产生和 ATP 的浓度成正比, 这样就可以高灵敏地检测溶液中的 ATP 浓度。本试剂盒在样品体积为 100uL 时可以检测浓度低至 1nmol/L 的 ATP, 检测上限可以高达 10uM, 并在 1nmol/L-10uM 范围内可以形成良好的标准曲线。

**使用方法:**

**一、 样品测定的准备(注意: 样品裂解需在 4℃或冰上操作):**

1. 对于贴壁细胞: 吸除培养液, 按照 6 孔板每孔加入 200uL 裂解液的比例(即相当于

细胞培养液量 2mL 的 1/10)加入裂解液，裂解细胞。裂解细胞时为了裂解充分，可以使用移液器进行反复吹打或晃动培养板使裂解液充分接触并裂解细胞。通常细胞在接触裂解液后会立即裂解。裂解后 4°C 12000g 离心 5 分钟，取上清，用于后续的测定。

2. **对于悬浮细胞：**用离心管离心沉淀细胞，弃上清，轻轻弹散细胞，按照 6 孔板每孔的细胞量加入 200uL 裂解液的比例加入裂解液，裂解细胞。裂解细胞时为了裂解充分可以弹击离心管管底或适当 Vortex 使裂解液充分接触并裂解细胞。通常细胞在接触裂解液后会立即裂解。裂解后 4°C 12000g 离心 5 分钟，取上清，用于后续的测定。
3. **对于组织样品：**按照每 20mg 组织加入约 100-200uL 裂解液的比例加入裂解液，然后用玻璃匀浆器或其它匀浆设备进行匀浆。充分匀浆可以确保组织被完全裂解。裂解后 4°C 12000g 离心 5 分钟，取上清，用于后续的测定。

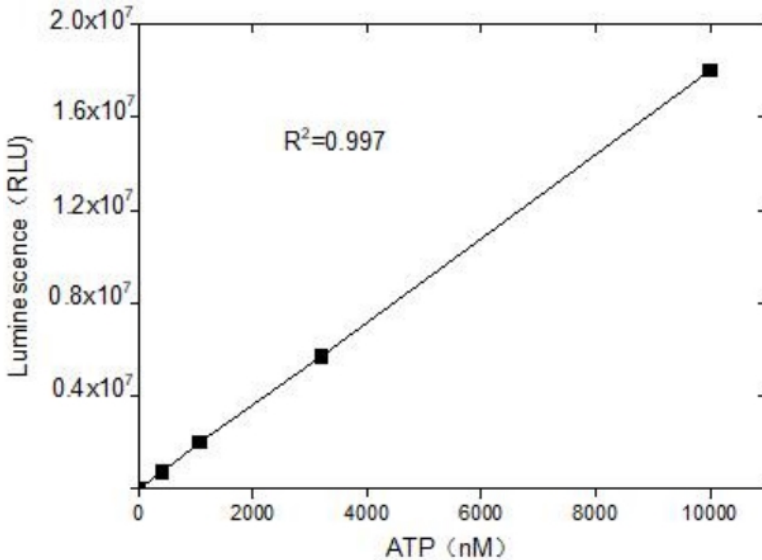
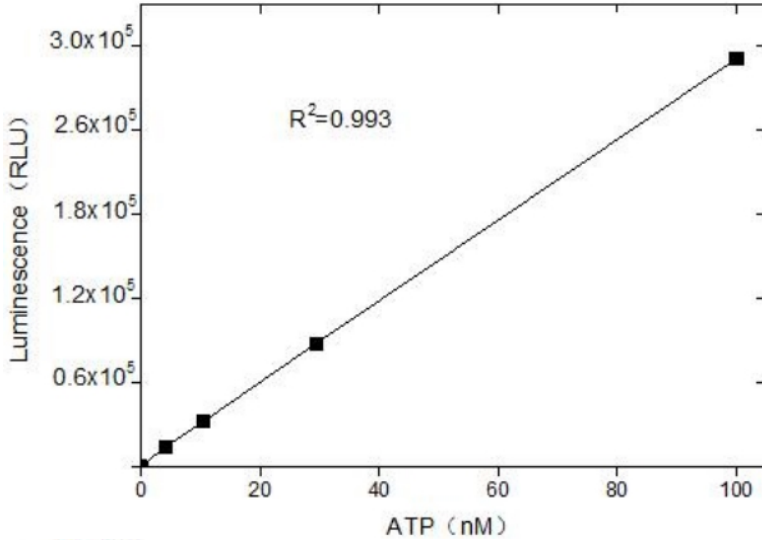
**二、标准曲线测定的准备：**冰浴上融解待用试剂，把 ATP 标准溶液用 ATP 检测裂解液稀释成适当的浓度梯度。具体的浓度需根据样品中 ATP 的浓度而定。初次检测可以检测 0.01、0.03、0.1、0.3、1、3 和 10uM 这几个浓度，在后续的实验中，可以根据样品中 ATP 的浓度对标准品的浓度范围进行适当调整。

**三、ATP 检测工作液的配制：**按照每个样品或标准品需 100uL ATP 检测工作液的比例配制适量的 ATP 检测工作液。把待用试剂在冰浴上融解。取适量的 ATP 检测试剂，按照 1:9 的比例用 ATP 检测试剂稀释液稀释 ATP 检测试剂。例如 100uL ATP 检测试剂加入 900uL ATP 检测试剂稀释液配制成 1mL ATP 检测工作液。稀释后的 ATP 检测试剂即为用于后续实验的 ATP 检测工作液。ATP 检测工作液可在冰浴上暂时保存。

#### 四、ATP 浓度的测定：

1. 加 100uL ATP 检测工作液到检测孔或检测管内。室温放置 3-5 分钟，以使本底性的 ATP 全部被消耗掉，从而降低本底。可以一次性把 10-20 个检测孔或检测管分别加上 100uL ATP 检测工作液，从而节省时间。
2. 在检测孔或检测管内加上 20uL 样品或标准品，迅速用枪(微量移液器)混匀，至少间隔 2 秒后，用化学发光仪(Luminometer)或液闪仪测定 RLU 值或 CPM。

**注：**样品的体积可以自行在 10-100uL 范围内调节。如果样品中的 ATP 浓度比较低则可以加入 100uL 样品，如果样品中 ATP 浓度比较高则可以加入较小体积的样品，同时标准品也需要使用相同的体积。如果样品中 ATP 的浓度特别高，可以用 ATP 检测裂解液稀释样品后再测定。本试剂盒在加入 10-100uL 标准品时，大致在 1nM-10uM 的浓度范围内有很好的线性关系(参考下图)。



**注：**上图中本产品对 ATP 标准品的检测效果。图中数据为 20uL 标准品并减去空白对照后的数据。实测数据会因检测仪器等的不同而存在差异，图中数据仅供参考。

3. 根据标准曲线计算出样品中 ATP 的浓度。
4. 为了消除样品制备时由于蛋白量的差异而造成的误差，可以用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒(货号: P301)测定样品中的蛋白浓度。然后把 ATP 的浓度换算成 nmol/mg 蛋白的形式。

**注意事项:**

1. ATP 检测试剂中含有萤光素酶，反复冻融会导致其逐渐失活。建议用户使冻融次数不宜超过 3 次。ATP 检测试剂稀释成 ATP 检测工作液后，最好一次用完，不宜冻存后再使用。
2. ATP，特别是裂解后样品中的 ATP 在室温不太稳定，需在 4°C或冰上操作。
3. 本试剂盒需使用 Luminometer，即化学发光仪(检测萤光素酶报告基因时所用的仪器)。如果没有 Luminometer，也可以使用液闪仪。液闪仪的测定效果取决于液闪仪的检测灵敏度和检测精度。
4. 使用多功能酶标仪时，推荐使用孔和孔之间不透光的 96 孔白板或黑板。
5. 本试剂盒提供的 ATP 检测裂解液可以有效裂解并释放常见的培养细胞和组织中的 ATP。对于一些特殊的组织或样品，如果发现检测出来的 ATP 水平显著低于预期水平，可以在裂解样品后并且在离心前，取部分样品煮沸 2 分钟以充分释放 ATP。
6. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
7. 本产品仅限于专业人员科学研究使用，不得用于临床诊断和药品等用途。

=====

