

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号：E-BC-F004

产品规格：48T(48 samples)/96T(96 samples)

检测仪器：化学发光检测仪

Elabscience® ATP/ADP 比值化学发光法测试盒

ATP/ADP Ratio Chemiluminescence Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100

邮箱：biochemical@elabscience.cn

网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测细胞样本中 ATP 与 ADP 的比值，从而分析细胞状态。

检测原理

三磷酸腺苷(ATP)是生物的能量通货，由糖酵解或线粒体内三羧酸循环及电子传递链产生，是细胞内能量的源泉。通常情况下，ATP 与二磷酸腺苷(ADP)会互相转化，ATP 与 ADP 的比值变化与细胞凋亡、细胞自噬、能量代谢等诸多途径息息相关，因此经常作为细胞活性的检测指标。

ATP 与荧光素在荧光素酶的催化下，反应发出荧光，再用酶将 ADP 转化为 ATP，采用相同的原理检测 ATP，即可算出细胞内的 ATP/ADP 的比值。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	20 mL×1 瓶	40 mL×1 瓶	-20°C 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	酶试剂 (Enzyme)	粉剂×1 支	粉剂×2 支	-20°C 避光 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	酶稀释液 (Enzyme Diluent)	7 mL×1 瓶	14 mL×1 瓶	-20°C 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	底物 (Substrate)	粉剂×2 支	粉剂×4 支	-20°C 避光 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	加速剂 (Accelerant)	0.5 mL×1 支	1 mL×1 支	-20°C 保存 6 个月
	96 孔黑色酶标板	1 板		
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：化学发光检测仪或多功能酶标仪（具有检测化学发光的功能）、恒温培养箱

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至25℃。

② 试剂二工作液的配制：

取一支试剂二，加入1 mL试剂三溶解，未用完的溶液，分装后-20℃可保存一个月。

③ 酶工作液的配制：

按试剂二工作液：试剂三=1：5的体积比配制，按需配制，现用现配。

④ 反应工作液的配制：

取一支试剂四，加入1.49 mL试剂一溶解，再加入10 μL试剂五，涡旋混匀，现用现配。

样本准备

① 样本处理

细胞样本：取收集好的细胞按照每 1×10^6 个细胞，加入150 μL试剂一（2 mL EP管），盖紧混匀后，插在浮漂上放入沸水中水浴10 min，流水冷却后，4℃， $10000 \times g$ 离心10 min，取上清液，置于冰上待测。

实验关键点

① 避免试剂二工作液反复冻融，可分装后-20℃保存。

② 一次性检测孔数需控制在30个以下。

操作步骤

- ① 测定孔：取 100 μL 酶工作液，加入到相应的酶标孔中，25 $^{\circ}\text{C}$ 静置 5 min，在化学发光检测仪上，测定各孔发光值 L_1 。
- ② 向步骤①中各孔加入 20 μL 待测样本，振板 5 s，立即在化学发光检测仪上测定各孔发光值 L_2 。
- ③ 将步骤②中的各孔 25 $^{\circ}\text{C}$ 静置 30 min，使用化学发光检测仪检测各孔发光值 L_3 。
- ④ 向步骤③中的各孔加入 50 μL 反应工作液，25 $^{\circ}\text{C}$ 静置 6 min。
- ⑤ 振板 5 s，在化学发光检测仪上检测各孔发光值 L_4 。

结果计算

ATP/ADP 比值的计算公式：

$$\text{ATP/ADP 比值} = \frac{L_2 - L_1}{L_4 - L_3}$$

注解：

L₁：黑色酶标板背景发光值

L₂：加入样本后体系的发光值（ATP 发光值=L₂-L₁）

L₃：加入 ADP 转化酶前体系的发光值

L₄：加入 ADP 转化酶后体系的发光值（ADP 发光值=L₄-L₃）

附录1 关键数据

1. 技术参数

批间差	2.9-9.4%	批内差	3.5-7.6%
-----	----------	-----	----------

声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。

