

(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-F002

产品规格: 48T(32 samples)/96T(80 samples)

检测仪器: 化学发光检测仪

Elabscience® ATP 含量化学发光法测试盒

ATP 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

本试剂盒适用于动物组织样本与细胞样本中的 ATP 含量检测。

检测原理

ATP 与荧光素在荧光素酶的催化下，反应放出荧光，在一定范围内荧光强度与 ATP 浓度成正比关系。

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)	提取液 (Extracting Solution)	50 mL×1 瓶	50 mL×2 瓶	-20°C 保存 3 个月
试剂二 (Reagent 2)	100 μmol/L 标准品 (100 μmol/L Standard Solution)	1 mL×1 支	1 mL×1 支	-20°C 保存 3 个月
试剂三 (Reagent 3)	酶试剂 (Enzyme Reagent)	粉剂×1 支	粉剂×2 支	-20°C 避光 保存 3 个月
试剂四 (Reagent 4)	酶稀释液 (Enzyme Diluent)	7 mL×1 瓶	14 mL×1 瓶	-20°C 保存 3 个月
	96 孔黑色酶标板	96 孔×1 块		无要求
	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）

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂一、二、四平衡至室温，试剂三放置在冰盒上。

② 试剂三工作液的配制：

每支试剂三用1 mL试剂四溶解，未用完部分，分装后-20°C避光保存一个月。

③ 酶工作液的配制：

按试剂三工作液：试剂四=1: 5的体积比配制，按需现用现配。

④ 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度($\mu\text{mol/L}$)	0	0.5	1	2	2.5	3	4	5
100 $\mu\text{mol/L}$ 标准品 (μL)	0	5	10	20	25	30	40	50
试剂一(μL)	1000	995	990	980	975	970	960	950

样本准备

① 样本处理

动物组织样本:称取 0.05 g 动物组织样本,于 2 mL EP 管中,加入 0.45 mL 试剂一,在冰水浴条件下,60 Hz,90 s 研磨制成组织匀浆,并沸水浴 2 min,流水冷却后,4°C,10000 × g 离心 10 min,取上清置于冰上待测。

细胞样本:取收集好的细胞按照每 2×10^6 个加入 0.3 mL 试剂一(2 mL EP 管中),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°C,10000 × g,离心 10 min,取上清待测。

② 样本的稀释

在正式检测前,需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验,根据预实验的结果,结合本试剂盒的线性范围:0.003-5 $\mu\text{mol/L}$,请参考下表稀释(仅供参考):

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
10%小鼠心脏组织	不稀释	10%小鼠肝脏组织	不稀释
10%小鼠肾脏组织	不稀释	10%小鼠脑组织	不稀释
10%小鼠肌肉组织	不稀释	10%小鼠肺组织	不稀释

注:稀释液为试剂一。

实验关键点

① 避免试剂三工作液的反复冻融,可分装后-20°C 保存。

② 本试剂盒需要使用化学发光检测仪(Luminometer)或具有检测化学发光功能的多功能酶标仪。

③ 一次性检测孔(包括标准孔)的数量需控制在30个以下。

操作步骤

- ① 标准孔、测定孔: 取 100 μL 酶工作液, 加入到对应板孔中, 静置 5 min。
- ② 向①中标准孔加入 100 μL 不同浓度的标准品, 并迅速用移液器吸打混匀;
向①中测定孔加入 100 μL 待测样本上清, 并迅速用移液器吸打混匀。
- ③ 在化学发光检测仪上, 测定各孔荧光值。

注: 用移液器混匀时, 要小心吸打, 避免产生气泡。

操作表

	标准孔	测定孔
酶工作液(μL)	100	100
静置 5 min		
不同浓度标准品(μL)	100	--
样本上清(μL)	--	100
迅速用移液器吸打混匀, 在化学发光检测仪上, 测定各孔荧光值。		

结果计算

标准品拟合曲线: $y = ax + b$

组织样本中 ATP 含量计算公式:

$$\text{ATP 含量} \\ (\mu\text{mol/kg 组织湿重}) = (\Delta F - b) \div a \times \frac{V}{m} \times f$$

细胞样本中 ATP 含量计算公式:

$$\text{ATP 含量} \\ (\mu\text{mol/l} * 10^9) = (\Delta F - b) \div a \times \frac{V}{N} \times f$$

注解:

a: 标曲斜率

b: 截距

y: 标准品荧光值 - 空白荧光值(标准品浓度为 0 时的荧光值)

x: 荧光值对应的浓度

ΔF : 样本测定荧光值-空白荧光值

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

m: 组织的湿重, 建议 m 取 0.05 g

V: 组织样本或细胞样本处理过程中加入匀浆介质的体积, mL

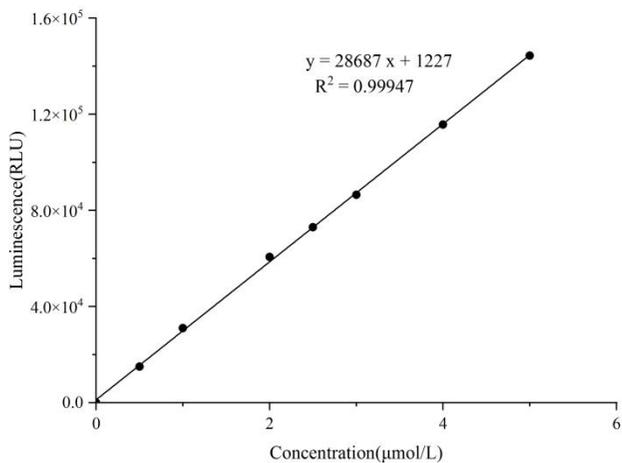
n: 细胞处理过程细胞量/ 1×10^6

附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	0.003-5 $\mu\text{mol/L}$	平均批间差	6.5 %
灵敏度	0.003 $\mu\text{mol/L}$	平均批内差	2.2 %
平均回收率	102 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)



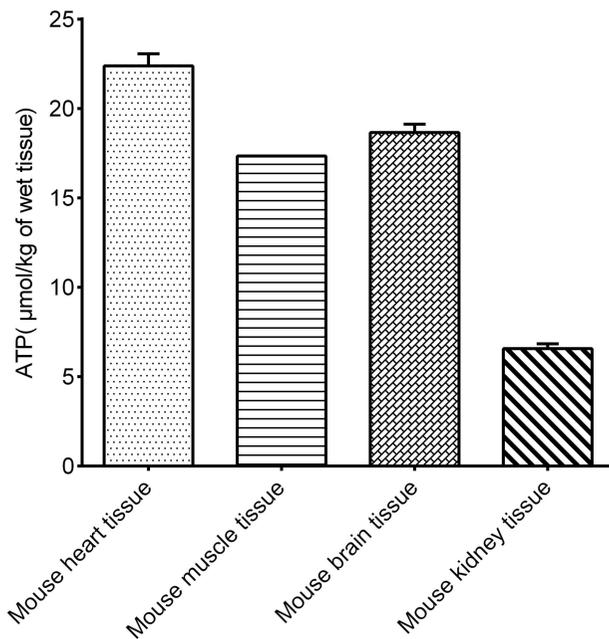
附录2 实例分析

例如检测小鼠肺组织(数据仅供参考):

取0.05 g小鼠肺组织,按照说明书操作,结果如下:ATP的标准曲线: $y = 26257x + 1070$, 测定孔平均荧光值为19512, 空白孔平均荧光值为92, 计算结果为:

$$\text{ATP 含量} (\mu\text{mol/kg 组织湿重}) = (19512 - 92 - 1070) \div 26257 \div 0.05 \times 0.45 = 6.29 \mu\text{mol/kg 组织湿重}$$

按照说明书操作,测定10%小鼠心脏组织(加样量100 μL)、10%小鼠肌肉组织(加样量100 μL)、10%小鼠脑组织(加样量100 μL)和10%小鼠肾脏组织(加样量100 μL)中ATP含量(如下图):



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
样本荧光值低	加样和混匀的时间太长	减少一次性检测样本孔的数量
低值样本受系统误差影响较大	绘制标曲时,未选择合适范围	缩小标准品的浓度范围
样本测不出值	样本稀释倍数太大	选择合适稀释倍数,重新检测
	样本保存时间过长或者保存不当	取新鲜样本,重新检测
样本测量结果 >5 $\mu\text{mol/L}$	样本浓度太高	选择合适稀释倍数,重新检测

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。

附录4 客户发表文献

1. Qin H, Li G, Kong R, et al. Isomer-specific cardiotoxicity induced by tricresyl phosphate in zebrafish embryos/larvae[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2024, 474: 134753.
2. Zhu S, Sun C, Cai Z, et al. Effective therapy of advanced breast cancer through synergistic anticancer by paclitaxel and P-glycoprotein inhibitor[J]. *Materials Today Bio*, 2024, 26: 101029
3. Wu S, Liu H, Liu X, et al. Ginsenoside Rb1-loaded bionic nanoparticles alleviate sepsis-induced acute lung injury by reducing mitochondrial oxidative stress to inhibit macrophage PANoptosis[J]. *Materials & Design*, 2024, 245: 113291.
4. Wang H, Huang Q, Zhang Z, et al. Transient post-operative overexpression of CXCR2 on monocytes of traumatic brain injury patients drives monocyte chemotaxis toward cerebrospinal fluid and enhances monocyte-mediated immunogenic cell death of neurons in vitro[J]. *Journal of neuroinflammation*, 2022, 19(1): 171.
5. Li Y, Yang X, Li X, et al. Astragaloside IV and cycloastragenol promote liver regeneration through regulation of hepatic oxidative homeostasis and glucose/lipid metabolism[J]. *Phytomedicine*, 2024, 135: 156165.
6. Xu Z, Lv C, Gao J, et al. LncRNA ACVR2B-as1 interacts with ALDOA to regulate the self-renewal and apoptosis of human spermatogonial stem cells by controlling glycolysis activity[J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2024, 81(1): 391.

