

(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℃ 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℃ 保存 3 个月
试剂三 (Reagent 3)	酶试剂 (Enzyme Reagent)	粉剂×1 支	粉剂×2 支	-20℃ 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℃ 保存 3 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）

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℃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℃,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℃,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 $\mu\text{mol/L}$,请参看下表稀释(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℃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

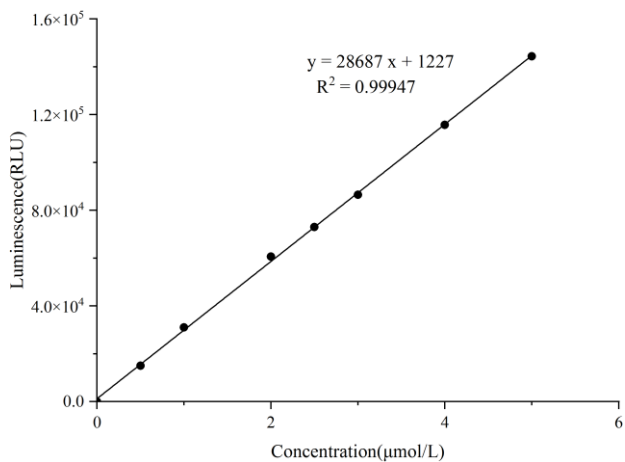
n: 细胞处理过程细胞量/ 1×10^6

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)



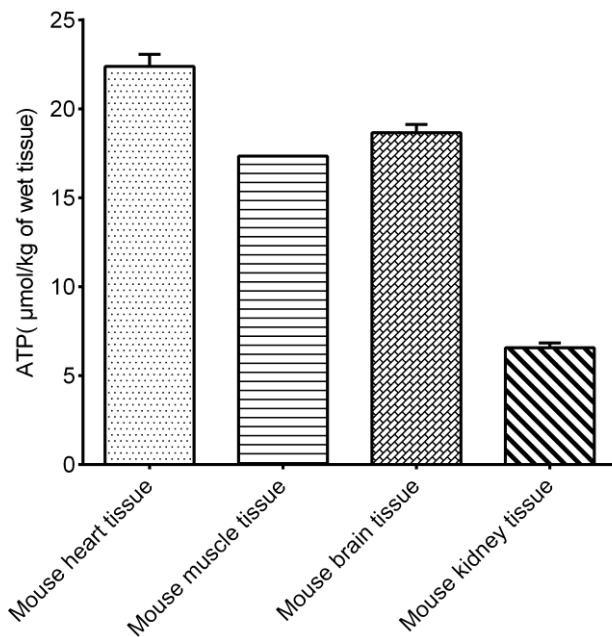
附录2 实例分析

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. Du S, Zhou N, Xie G, et al. Surface-engineered triboelectric nanogenerator patches with drug loading and electrical stimulation capabilities: Toward promoting infected wounds healing[J]. *Nano Energy*, 2021, 85:106004. IF:17.087
2. Bartolini D, Arato I, Mancuso F, et al. Melatonin modulates Nrf2 activity to protect porcine pre-pubertal Sertoli cells from the abnormal H₂O₂ generation and reductive stress effects of cadmium. *J Pineal Res.* 2022;73 (1):e12806. IF:13.007
3. Yang Z, Wang J, Ai S, et al. Self-generating oxygen enhanced mitochondrion-targeted photodynamic therapy for tumor treatment with hypoxia scavenging[J]. *Theranostics*, 2019, 9(23): 6809. IF:11.556
4. Wan Q, Cao R, Wen G, et al. Sequential use of UV-LEDs irradiation and chlorine to disinfect waterborne fungal spores: Efficiency, mechanism and photoreactivation[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 423:127102-. IF:10.588
5. Tian J, Wang L, Hui S, et al. Cadmium accumulation regulated by a rice heavy-metal importer is harmful for host plant and leaf bacteria. *J Adv Res.* 2022. IF:10.479
6. Jg A, Jie S B, Jy B, et al. Comparative toxicity reduction potential of UV/sodium percarbonate and UV/hydrogen peroxide treatments for bisphenol A in water: An integrated analysis using chemical, computational, biological, and metabolomic approaches[J]. *Water Research*, 2020, 190. IF:9.702
7. Yang X X, Xu X, Wang M F, et al. A nanoreactor boosts chemodynamic therapy and ferroptosis for synergistic cancer therapy using molecular amplifier dihydroartemisinin[J]. *Journal of Nanobiotechnology*, 2022, 20(1):1-19. IF:9.464
8. Liu Z, Liu X, Yang Q, et al. Neutrophil membrane-enveloped nanoparticles for the amelioration of renal ischemia-reperfusion injury in mice[J]. *Acta Biomaterialia*, 2020, 104: 158-166. IF:8.947
9. Huang S, Le H, Hong G, et al. An all-in-one biomimetic iron-small interfering RNA nanoplatfrom induces ferroptosis for cancer therapy. *Acta Biomater.* 2022;148:244-257. IF:8.291
10. Alharbi YM, Sakr SS, Albarrak SM, et al. Antioxidative, Antidiabetic, and Hypolipidemic Properties of Probiotic-Enriched Fermented Camel Milk Combined with *Salvia officinalis* Leaves Hydroalcoholic Extract in Streptozotocin-Induced Diabetes in Rats. *Antioxidants (Basel)*. 2022;11 (4):. IF:7.675

11. 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. IF:7.573
12. Liu P, Yin Z, Chen M, et al. Cytotoxicity of adducts formed between quercetin and methylglyoxal in PC-12 cells[J]. *Food Chemistry*, 2021, 352(2):129424. IF:7.514
13. Adhikari B, Adhikari M, Ghimire B, et al. Cold plasma seed priming modulates growth, redox homeostasis and stress response by inducing reactive species in tomato (*Solanum lycopersicum*)[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2020, 156: 57-69. IF:7.376
14. Zhao X, Wang C, Dai S, et al. Quercetin Protects Ethanol-Induced Hepatocyte Pyroptosis via Scavenging Mitochondrial ROS and Promoting PGC-1 α -Regulated Mitochondrial Homeostasis in L02 Cells. *Oxid Med Cell Longev*. 2022;2022:4591134. IF:7.31
15. Chagas TQ, Freitas ÍN, Montalvão MF, Nobrega RH, Machado MRF, Charlie-Silva I, Araújo APDC, Guimarães ATB, Alvarez TGDS, Malafaia G. Multiple endpoints of polylactic acid biomicroplastic toxicity in adult zebrafish (*Danio rerio*)[J]. *Chemosphere*. 2021 Aug;277:130279. IF:7.086
16. Mlindeli Gamede, Lindokuhle Mabuza, Phikelelani Ngubane, et al. Preventing the onset of diabetes-induced chronic kidney disease during prediabetes: The effects of oleanolic acid on selected markers of chronic kidney disease in a diet-induced prediabetic rat model[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2021 Jul;139:111570. IF:6.529
17. Yang H, Zhu Y, Ye Y, et al. Nitric oxide protects against cochlear hair cell damage and noise-induced hearing loss through glucose metabolic reprogramming.[J]. *Free radical biology & medicine*, 2021. IF:6.525
18. Rao M J, Xu Y, Tang X, et al. CsCYT75B1, a Citrus CYTOCHROME P450 Gene, Is Involved in Accumulation of Antioxidant Flavonoids and Induces Drought Tolerance in Transgenic Arabidopsis[J]. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2020, 9(2):161. IF:6.313
19. Liou G G, Hsieh C C, Lee Y J, et al. N-Acetyl Cysteine Overdose Inducing Hepatic Steatosis and Systemic Inflammation in Both Propacetamol-Induced Hepatotoxic and Normal Mice[J]. *Antioxidants*, 2021, 10(3):442. IF:6.312
20. Wang Y, Chi H, Xu F, et al. Cadmium chloride-induced apoptosis of HK-2 cells via interfering with mitochondrial respiratory chain[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2022, 236:113494-. IF:6.233
21. Obaid QA, Al-Shammari AM, Khudair KK. Glucose Deprivation Induced by Acarbose

- and Oncolytic Newcastle Disease Virus Promote Metabolic Oxidative Stress and Cell Death in a Breast Cancer Model. *Front Mol Biosci.* 2022;9:816510. IF:6.113
22. Abdel-Wahab BA, Walbi IA, Albarqi HA, Ali FEM, Hassanein EHM. Roflumilast protects from cisplatin-induced testicular toxicity in male rats and enhances its cytotoxicity in prostate cancer cell line. Role of NF- κ B-p65, cAMP/PKA and Nrf2/HO-1, NQO1 signaling[J]. *Food Chem Toxicol.* 2021 May;151:112133. IF:6.023
 23. Aljutaily T. Evaluating the Nutritional and Immune Potentiating Characteristics of Unfermented and Fermented Turmeric Camel Milk in Cyclophosphamide-Induced Immunosuppression in Rats. *Antioxidants (Basel).* 2022;11 (4):. IF:5.952
 24. Jabbari N, Nawaz M, Rezaie J. Ionizing Radiation Increases the Activity of Exosomal Secretory Pathway in MCF-7 Human Breast Cancer Cells: A Possible Way to Communicate Resistance against Radiotherapy[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(15):3649-. IF:5.923
 25. Shanmugarajan D, Girish C, Harivenkatesh N, et al. Antihypertensive and pleiotropic effects of *Phyllanthus emblica* extract as an add - on therapy in patients with essential hypertension—A randomized double - blind placebo - controlled trial[J]. *Phytotherapy Research*, 2021. IF:5.878
 26. Short-Chain Fatty Acid, Sodium Propionate, in Patients on Maintenance Hemodialysis: Beneficial Effects on Inflammatory Parameters and Gut-Derived Uremic Toxins, A Pilot Study (PLAN Study)[J]. *Journal of Clinical Medicine*, 2018. IF:5.688
 27. Peng J, Pan J, Mo J, et al. MPO/HOCl Facilitates Apoptosis and Ferroptosis in the SOD1 G93A Motor Neuron of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Oxid Med Cell Longev.* 2022;2022:8217663. IF:5.604
 28. Treadmill Exercise Alleviates Brain Iron Dyshomeostasis Accelerating Neuronal Amyloid- β Production, Neuronal Cell Death, and Cognitive Impairment in Transgenic Mice Model of Alzheimer's Disease[J]. *Molecular neurobiology*, 2021, 58(7):3208-3223. IF:5.59
 29. Aboulhoda, B. E., Rashed, L. A., Ahmed, H., et al. Hydrogen sulfide and mesenchymal stem cells - extracted microvesicles attenuate LPS - induced Alzheimer's disease[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2021, 236(8):5994-6010 IF:5.546
 30. Liu W, Jia H, Guan M, et al. Discovery of novel tubulin inhibitors targeting the colchicine binding site via virtual screening, structural optimization and antitumor evaluation. *Bioorg Chem.* 2022;118:105486. IF:5.508