

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号：GBQ008

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		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℃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(μmol/L)	0	0.5	1	2	2.5	3	4	5
100 μmol/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 2×10⁶ 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 μmol/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℃ 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:

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

细胞样本中 ATP 含量计算公式:

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

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

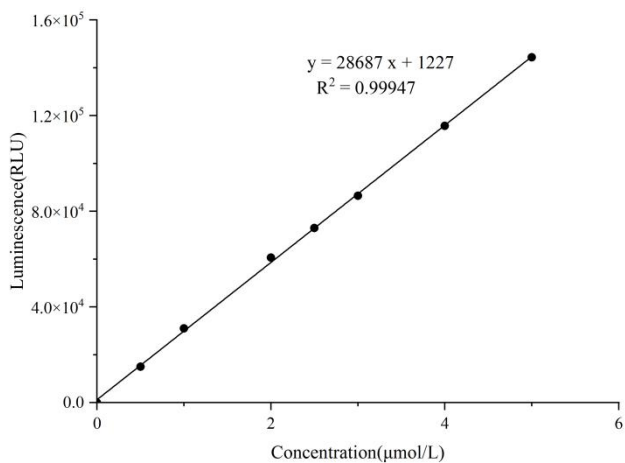
n: 细胞处理过程细胞量/ 1×10^6

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)



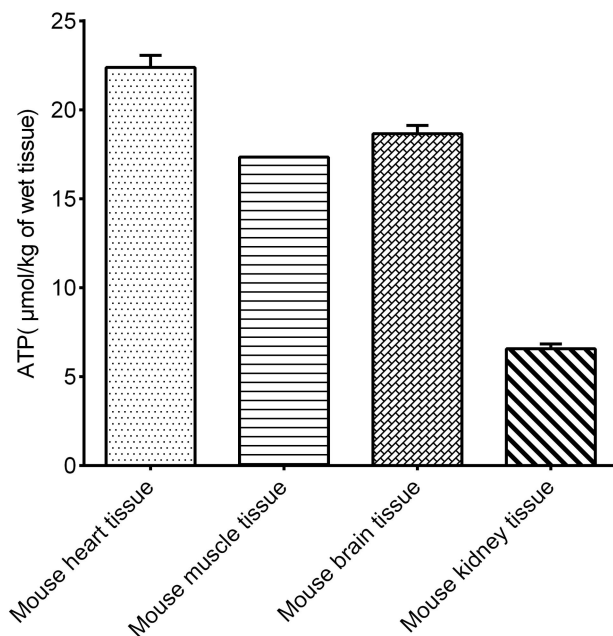
附录2 实例分析

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:

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

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 nanoplatform 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