（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-K157-S

产品规格：50 assays(24 samples)/100 assays(48 samples)

检测仪器：紫外-可见光分光光度计(636 nm)

Elabscience® ATP 含量比色法测试盒

ATP Colorimetric 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动物组织样本中 ATP 的含量。

检测原理

肌酸激酶催化肌酸和 ATP 反应生成磷酸肌酸，通过比色法检测磷酸肌酸的含量，以此反应出 ATP 的含量。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1) (50 assays)	规格 2 (Size 2) (100 assays)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	提取液 (Extracting Solution)	30 mL×1 瓶	60 mL×1 瓶	2-8°C 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	底物 (Substrate)	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8°C 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	缓冲液 (Buffer Solution)	12 mL×1 瓶	24 mL×1 瓶	2-8°C 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	酶试剂 (Enzyme Reagent)	粉剂×1 支	粉剂×2 支	-20°C 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	蛋白沉淀剂 (Protein Precipitator)	3 mL×1 瓶	6 mL×1 瓶	2-8°C 保存 6 个月
试剂六 (Reagent 6)	显色剂 A (Chromogenic Agent A)	24 mL×1 瓶	48 mL×1 瓶	2-8°C 避光 保存 6 个月
试剂七 (Reagent 7)	显色剂 B (Chromogenic Agent B)	8 mL×1 支	16 mL×1 瓶	2-8°C 保存 6 个月
试剂八 (Reagent 8)	终止剂 (Stop Solution)	30 mL×1 瓶	60 mL×1 瓶	2-8°C 保存 6 个月
试剂九 (Reagent 9)	标准品 (Standard)	粉剂×2 支	粉剂×4 支	2-8°C 保存 6 个月

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：紫外-可见光分光光度计(636 nm)、水浴锅(100°C)

试剂：双蒸水、生理盐水(0.9% NaCl)

试剂准备

① 检测前，所有的试剂平衡至室温。

② 试剂二工作液的配制

向试剂二中加入6 mL双蒸水，拧紧瓶盖，放入沸水中水浴使其完全溶解；使用前观察到有结晶析出，可沸水浴溶解后，放置37℃保存待用。使用完后2-8℃保存7天。

③ 试剂四工作液的配制：

取1.8 mL双蒸水加入到试剂四中，充分溶解后放置冰盒上待用。 使用完后-20℃保存7天。

④ 对照工作液的配制：

按试剂二工作液：试剂三：双蒸水=100：200：30的比例配制，现用现配，按需配制。

测定工作液的配制：

按试剂二工作液：试剂三：试剂四工作液=100：200：30的比例配制，现用现配，按需配制。

⑤ 显色剂工作液配制：

按试剂六：试剂七=3：1配制，37℃放置1小时，现用现配，按需配制。

⑥ 10 mmol/L ATP标准品储备液：

取一支试剂九加入1 mL双蒸水，充分混匀溶解，-20℃保存7天。

⑦ 1 mmol/LATP标准品：

按10 mmol/L ATP标准品储备液：双蒸水=1：9配制，即10倍稀释，-20℃保存7天。

样本准备

① 样本处理

组织样本处理：准确称取 0.1 g 组织样本，并剪碎放入 2 mL EP 管中(或经多次清洗的试管)，加入 0.9 mL 试剂一提取液，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，10000 × g，离心 10 min，取上清待测。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择差异较大的2-3例样本稀释成不同浓度进行预实验，结合检测范围：0.01-1.5 mmol/L，不同样本的稀释如下表(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
10%大鼠肌肉组织	2-3	10%大鼠肾脏组织	2-3
10%大鼠肝脏组织	2-3	10%大鼠肺组织	2-3
10%大鼠脑组织	2-3		

注：稀释液为双蒸水。

实验关键点

① 使用的实验器具应多次冲洗(10 次左右)，避免磷污染。

② 取用显色剂时，应倒出部分使用，避免试剂被污染。

③ 需要使用新鲜样本。

操作步骤

① 空白管、标准管：取 30 μL 的 1 mmol/L 标准品，加入到 1.5 mL EP 管中；

对照管、测定管：取 30 μL 待测样本，加入 1.5 mL EP 管中。

② 向空白管、对照管加入 330 μL 对照工作液。

③ 向标准管、测定管加入 330 μL 测定工作液。

④ 混匀后，37℃孵育 30 min。

⑤ 向④中各管加入 50 μL 试剂五。

⑥ 混匀 3 s 后，10000 × g 离心 5 min，取 300 μL 上清测定。

⑦ 向⑥中各管加入 500 μL 显色剂工作液。

⑧ 混匀后，室温静置 2 min。

⑨ 向⑧中各管加入 500 μL 试剂八。

⑩ 混匀后，室温静置 5 min，636 nm 处，0.5 cm 光径石英比色皿，双蒸水调零，测各管 OD 值。

操作表

	空白管	标准管	对照管	测定管
1 mmol/L 标准品(μL)	30	30	--	--
样本上清(μL)	--	--	30	30
对照工作液(μL)	330	--	330	--
测定工作液(μL)	--	330	--	330
混匀，37℃孵育 30 min				
试剂五(μL)	50	50	50	50
混匀 3 s 后，10000 × g 离心 5 min，取 300 μL 上清测定				
反应液上清(μL)	300	300	300	300
显色剂工作液(μL)	500	500	500	500
混匀后，室温静置 2 min				
试剂八(μL)	500	500	500	500
混匀后，室温静置 5 min，636 nm 处，0.5 cm 光径石英比色皿，双蒸水调零，测各管 OD 值。				

结果计算

组织中 ATP 含量：

$$\text{ATP 含量 (mmol/kg 组织湿重)} = \frac{\text{测定 OD 值-对照 OD 值}}{\text{标准 OD 值-空白 OD 值}} \times c \div \frac{m}{V_1} \times f$$

注解：

c：标准品浓度为 1 mmol/L

m：组织的鲜重(g)，建议 m 取 0.1 g

V_1：组织处理过程中加入试剂一的体积(mL)，建议取 0.9 mL

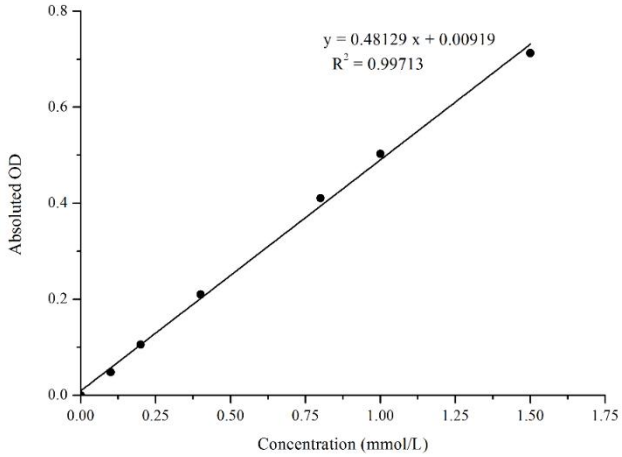
f：样本加入检测体系之前的稀释倍数

附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	0.01-1.5 mmol/L	**平均批间差**	9.3 %
灵敏度	0.01 mmol/L	**平均批内差**	3.6 %
平均回收率	103 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)



附录2 实例分析

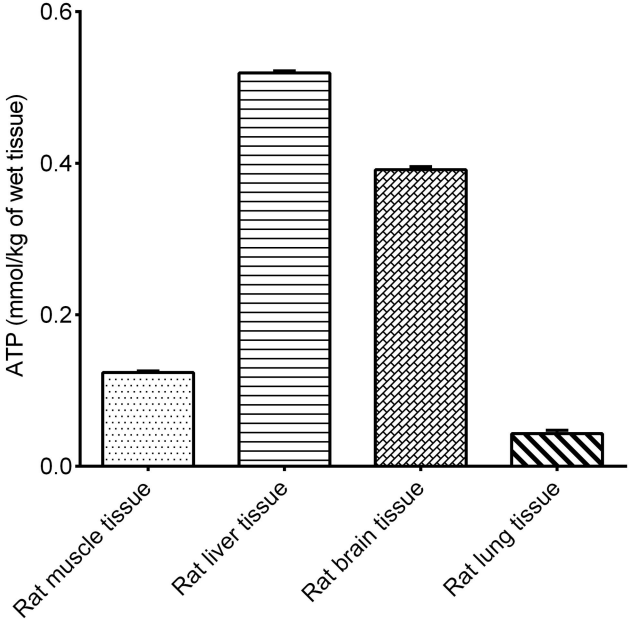
例如检测大鼠肌肉组织(数据仅供参考)：

取大鼠肌肉组织，按说明书处理后，用双蒸水稀释3倍，按操作表检测，结果如下：

空白管平均OD值为0.048，标准管平均OD值为0.622，测定管平均OD值为0.761，对照管平均OD值为0.758，计算结果为：

$$\text{ATP (mmol/kg 组织湿重)} = \frac{0.761-0.758}{0.622-0.048} \times 1 \div 0.1 \times 0.9 \times 3 = 0.14 \text{ mmol/kg 组织湿重}$$

按照说明书操作，测定大鼠肌肉(稀释3倍，加样量30 μL)、大鼠肝脏(稀释2倍，加样量30 μL)、大鼠脑组织(稀释2倍，加样量30 μL)、大鼠肺组织(稀释2倍，加样量30 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
复孔差异大	未严格按说明书操作	严格按照说明书操作
空白管 OD 值高	反应体系被污染	多次冲洗实验器具
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>1.5 mmol/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. Fu X Z , Wang Y .Correction to: Interferon-γ regulates immunosuppression in septic mice by promoting the warburg effect through the PI3K/AKT/mTOR pathway[J].Molecular Medicine, 2023, 29(1).DOI:10.1186/s10020-023-00710-w.

2. Malla A , Gupta S , Sur R .Inhibition of lactate dehydrogenase A by diclofenac sodium induces apoptosis in HeLa cells through activation of AMPK[J].FEBS Journal, 2024, 291(16):25.DOI:10.1111/febs.17158.

3. Pan L , Tianjiao E , Xu C ,et al.The apoptotic effects of soybean agglutinin were induced through three different signal pathways by down-regulating cytoskeleton proteins in IPEC-J2 cells[J].Scientific Reports, 2023, 13.DOI:10.1038/s41598-023-32951-4.

4. Sawong S , Pekthong D , Suknoppakit P ,et al.Calotropis gigantea stem bark extracts inhibit liver cancer induced by diethylnitrosamine[J].Scientific reports, 2022, 12(1):12151.DOI:10.1038/s41598-022-16321-0.

5. Olaniyi K S , Areloegbe S E .Acetate ameliorates ovarian mitochondrial dysfunction in letrozole-induced polycystic ovarian syndrome rat model by improving mitofusin-2[J].Journal of Physiological Sciences, 2024, 74(1).DOI:10.1186/s12576-024-00908-5.