

(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-F201

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(增强型)

Enhanced 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中 ATP 含量的检测。

检测原理

荧光素酶与荧光素结合，在 ATP 和氧气的存在下发生氧化反应，释放出荧光。当荧光素酶和荧光素都过量时，在一定范围内光信号的强度与 ATP 含量成正比。

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)	酶试剂 (Enzyme Reagent)	粉剂×1 支	粉剂×2 支	-20°C 避光 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	缓冲液 (Buffer Solution)	50 mL×1 瓶	50 mL×2 瓶	-20°C 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	100 μmol/L 标准品 溶液 (100 μmol/L Standard Solution)	1 mL×1 支	1 mL×1 支	-20°C 保存 6 个月
	黑色酶标板	96 孔×1 块		无要求
	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)，水浴锅

试剂准备

① 检测前，试剂一、二置于冰(盒)上待用，试剂三平衡至室温(25°C)。

② 酶储备液的配制：

每支试剂一加入1 mL试剂二溶解，分装后于-20°C可避光保存一周。

③ 工作液的配制：

按酶储备液：试剂二体积比=1：11配制，按需配制，现用现配，8 h内使用有效。

④ 4 $\mu\text{mol/L}$ 标准品的配制：

按试剂三：试剂二体积比=1：24 稀释成 4 $\mu\text{mol/L}$ 标准品，现用现配，8 h 内使用有效。

⑤ 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	0.1	0.3	0.5	1	2	3	4
4 $\mu\text{mol/L}$ 标准品(μL)	0	5	15	25	50	100	150	200
试剂二(μL)	200	195	185	175	150	100	50	0

样本准备

① 样本处理

组织样本：试剂二预冷至2-8°C。按照组织样本质量(g)：试剂二体积(mL)为1：9的比例(如0.05 g组织样本，加入0.45 mL试剂二)，于4°C条件下进行机械匀浆。将所得匀浆液沸水浴3 min，流水冷却至室温(25°C)，4°C，10000 × g离心5 min，取上清液至于冰(盒)上待测。匀浆后样本中的ATP不稳定，建议于1 h内进行测定。

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：0.002-4 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%小鼠心组织	不稀释	10%小鼠肝组织	不稀释
10%小鼠脾组织	不稀释	10%小鼠肺组织	不稀释
10%小鼠肾组织	不稀释	10%小鼠肌肉组织	2-4

注：稀释液为试剂二。

实验关键点

一次性检测孔(包含标准孔)的数量需控制在30个以下。

操作步骤

- ① 标准孔：取 2 μL 不同浓度的标准品加入到对应的板孔中；
测定孔：取 2 μL 待测样本加入到对应的板孔中。
- ② 向①中各孔加入 200 μL 工作液。
- ③ 立即测定各孔发光值，记为 L。

操作表

	标准孔	测定孔
不同浓度的标准品(μL)	2	--
待测样本(μL)	--	2
工作液(μL)	200	200
立即测定各孔发光值，记为 L		

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：

$$\text{ATP 含量} \quad (\mu\text{mol/kg wet weight}) = \frac{\Delta L - b}{a} \times f \div \frac{m}{V}$$

注解：

y：标准孔发光值-空白孔发光值(标准品浓度为 0 时的发光值)

x：标准品的浓度

a：标曲的斜率

b：标曲的截距

ΔL ：测定孔发光值-空白孔发光值

f：样本加入检测体系前的稀释倍数

m：样本质量，g

V：组织匀浆时加入试剂二的体积，mL

附录1 关键数据

1. 技术参数

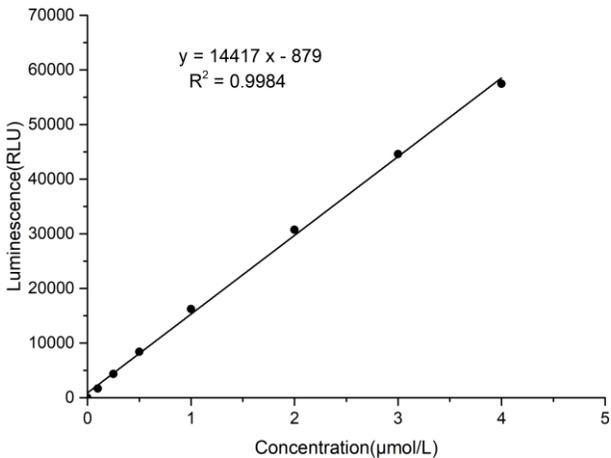
检测范围	0.002-4 $\mu\text{mol/L}$	批间差	1.1-2.4%
灵敏度	0.002 $\mu\text{mol/L}$	批内差	1.2-1.8%
加标回收率	104-107%		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

① 不同浓度标准品加样量2 μL ，按照操作步骤进行实验，发光值如下表所示：

标准品浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	0	0.1	0.3	0.5	1	2	3	4
发光值	134	1812	4428	8653	16535	31283	45291	57034
	145	1870	4546	8464	16197	30447	44154	58142
平均发光值	140	1841	4487	8559	16366	30865	44723	57588
绝对发光值	0	1702	4348	8419	16227	30726	44583	57449

② 绘制标曲(如下图):



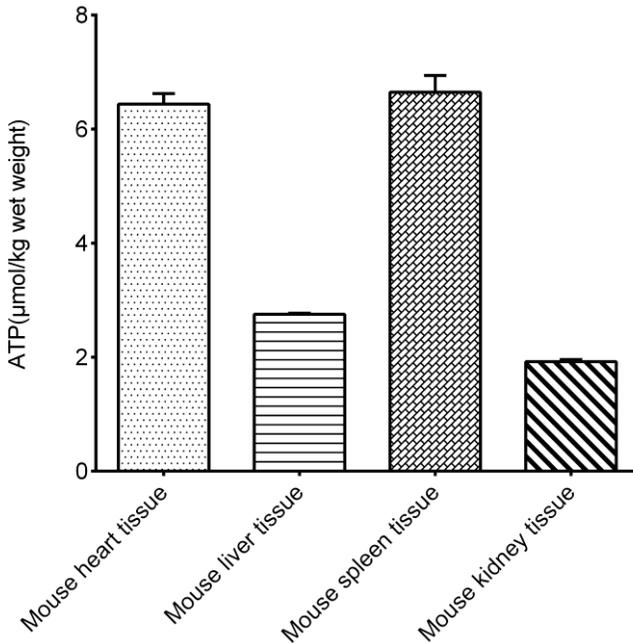
附录2 实例分析

例如检测小鼠心组织(数据仅供参考):

取 2 μL 10%小鼠心组织匀浆上清液,按操作表操作,结果如下:标准曲线 $y = 13051x + 819$,空白孔发光值为 130,测定孔发光值为 10289。计算结果为:

$$\begin{aligned}\text{ATP含量}(\mu\text{mol/kg wet weight}) &= (10289 - 130 - 819) \div 13051 \div 0.05 \times 0.45 \\ &= 6.44 \mu\text{mol/kg wet weight}\end{aligned}$$

按照说明书操作,测定小鼠心组织(10%组织匀浆,不稀释,加样量 2 μL)、小鼠肝组织(10%组织匀浆,不稀释,加样量 2 μL)、小鼠脾组织(10%组织匀浆,不稀释,加样量 2 μL)、小鼠肾组织(10%组织匀浆,不稀释,加样量 2 μL)中的 ATP 含量(如下图):



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。