

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号：GBQ126

产品规格：48T(22 samples)/96T(46 samples)

检测仪器：酶标仪(630-640 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 (Size1)(48 T)	规格 2 (Size2)(96 T)	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℃ 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	底物 (Substrate)	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8℃ 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℃ 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	酶试剂 (Enzyme Reagent)	粉剂×1 支	粉剂×2 支	-20℃ 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℃ 保存 6 个月
试剂六 (Reagent 6)	显色剂 A (Chromogenic Agent A)	6 mL×1 瓶	12 mL×1 瓶	2-8℃ 避光 保存 6 个月
试剂七 (Reagent 7)	显色剂 B (Chromogenic Agent B)	2 mL×1 瓶	4 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂八 (Reagent 8)	终止剂 (Stop Solution)	6 mL×1 瓶	12 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂九 (Reagent 9)	标准品 (Standard)	粉剂×2 支	粉剂×4 支	2-8℃ 保存 6 个月
	96 孔酶标板	48 孔×1 块	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：酶标仪（630-640 nm，最适检测波长 636 nm）、水浴锅(100℃)

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；若使用前有结晶析出，可沸水浴溶解后，放置37℃保存待用。未用完部分，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。未用完部分，-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1h，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，4℃，10000 × g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

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：0.03-1.5 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	2-4	10%大鼠肾脏组织	2-4
10%大鼠肝脏组织	2-4	10%大鼠肺组织	2-4
10%大鼠脑组织	2-4		

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。
- ④ 测定孔 OD 值大于 1 时，需要加大稀释倍数，重新检测。

操作步骤

酶促反应

- 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 样本上清，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°C 孵育 30 min。
- ⑤ 向④中各管加入 50 μL 试剂五。
- ⑥ 混匀 3 s 后，10000 $\times$ g 离心 5 min，取反应液上清待测。

显色反应

- ① 取 60 μL 反应液上清，加入到对应的酶标孔中。
- ② 向步骤①各孔加入 100 μL 显色剂工作液。
- ③ 酶标仪上振板 5 s，室温静置 2 min。
- ④ 向步骤③中各孔加入 100 μL 试剂八。
- ⑤ 酶标仪上振板 5 s，室温静置 5 min，酶标仪 636 nm 处，测各孔 OD 值。

操作表

酶促反应

	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，取反应液上清待测				

显色反应

	空白孔	标准孔	对照孔	测定孔
反应液上清(μL)	60	60	60	60
显色剂工作液(μL)	100	100	100	100
酶标仪上振板 5 s，室温静置 2 min				
试剂八(μL)	100	100	100	100
酶标仪上振板 5 s，室温静置 5 min，酶标仪 636 nm 处，测各孔 OD 值。				

结果计算

组织中 ATP 含量：

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

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

V₁：组织处理过程中加入试剂一的体积(mL)，建议取 0.9 mL

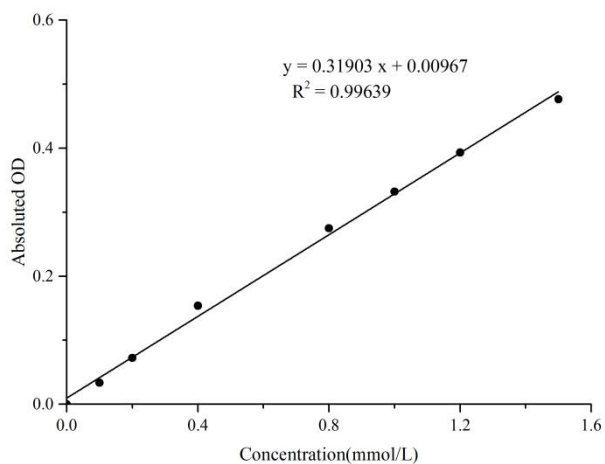
f：样本加入检测体系之前的稀释倍数

附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	0.03-1.5 mmol/L	平均批间差	5.4 %
灵敏度	0.01 mmol/L	平均批内差	5.1 %
平均回收率	94%		

2. 标准曲线(数据仅供参考)



附录2 实例分析

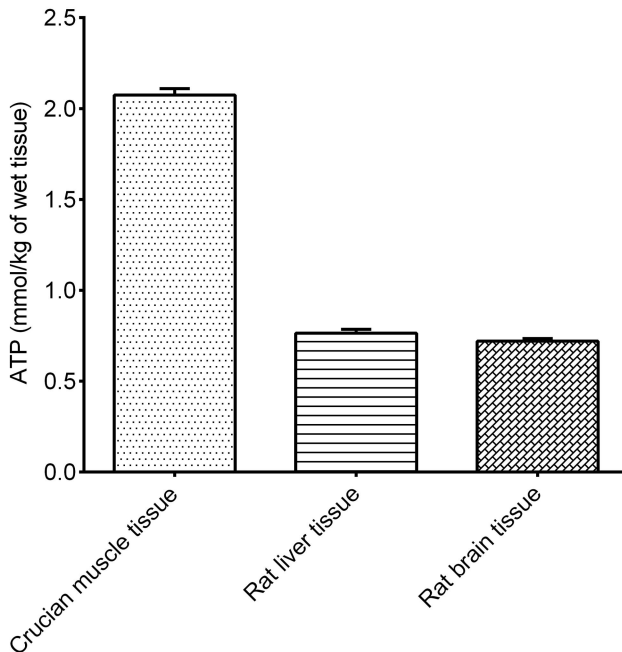
例如检测鲫鱼肌肉组织(数据仅供参考):

取鲫鱼肌肉组织,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0.104,标准管平均OD值为0.526,测定管平均OD值为0.931,对照管平均OD值为0.899,计算结果为:

$$\text{ATP (mmol/kg 组织湿重)} = \frac{0.931 - 0.899}{0.526 - 0.104} \times 1 \div 0.1 \times 0.9 \times 3 = 2.05 \text{ mmol/kg 组织湿重}$$

按照说明书操作,测定鲫鱼肌肉(稀释3倍,加样量30 μL)、大鼠肝脏(稀释3倍,加样量30 μL)、大鼠脑(稀释3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

