



ATP 检测试剂盒

ATP Assay Kit

包装清单

Cat No.	组分	包装规格-100T
MCK-0003	ATP 检测试剂 A (100×)	100 μ L
	ATP 检测试剂 B (10×)	1 mL
	ATP 检测试剂 C (10×)	3 mL
	ATP 检测试剂 D (100×)	100 μ L
	ATP 标准溶液 (0.5 mM)	250 μ L
	ATP 检测缓冲液 (20×)	1.8 mL
	说明书	1 份

产品简介

腺苷-5'-三磷酸 (ATP) 在细胞的各种生理、病理过程中至关重要，通常被称为细胞的能量分子。ATP 在活细胞的光合作用和细胞呼吸过程中产生，并在生物合成反应、运动和细胞分裂等细胞过程中消耗。作为细胞活性的一个关键指标，ATP 在研究和药物发现中常用来衡量细胞活力和细胞毒性。

默科的 ATP 检测试剂盒可快速检测细胞内 ATP 含量。原理为 ATP 在荧光素酶 (Firefly Luciferase) 的作用下与底物荧光素 (Luciferin) 反应产生荧光。当荧光素酶和底物荧光素均过量时，在一定浓度范围内荧光强度与 ATP 浓度成正比，通过测定荧光强度检测样品中 ATP 浓度。

本试剂盒适用于细胞、组织和其他生物样本中的 ATP 检测。100 T 至少可以检测 100 个样品。

默科的 ATP 检测试剂盒具有如下优点：

1. 样品制备简单：可直接用于细胞、组织裂解液的 ATP 检测，无需抽提纯化 ATP。
2. 灵敏度高：在 1 nM-5,000 nM 范围内有良好的检测灵敏度，线性范围宽。
3. 操作简便：实验方案简单快速，结果稳定可靠，可在 30-60 min 内检测完毕。

保存条件

-20°C 保存，有效期六个月；-80°C 保存，有效期一年。

避光保存，避免反复冻融。

注意事项

1. ATP 检测试剂中有荧光素酶 (Firefly Luciferase)，冻融会使其失活，应避免反复冻融，建议 ATP 检测试剂稀释后一次性用完。
2. ATP 不稳定，裂解后样品需在 4°C 或冰上操作。ATP 在冰上可稳定 6 h。
3. 本试剂盒需配套使用化学发光仪（检测荧光素酶报告基因的仪器），如果没有可选择液闪仪检测，检测灵敏度取决于液闪仪的灵敏度和精确度。
4. 使用化学发光的多功能酶标仪时，建议配套不透光的 96 孔白板或黑板。
5. 如果检测样品中 ATP 含量水平远低于预期，裂解后可取部分样品煮沸 2 min 充分释放 ATP 再离心进行后续检测。
6. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
7. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明

检测缓冲液和裂解液准备

- 1.1×ATP 检测缓冲液：提前将待用试剂置于冰上解冻，按照每个样品或标准品 100 μ L ATP 检测工作液，取适量 ATP 检测缓冲液 (20×) 用超纯水稀释 20 倍配制 1×ATP 检测缓冲液，置于冰上。
2. 裂解液：取适量 ATP 检测试剂 C (10×) 用 1×ATP 检测缓冲液稀释 10 倍配制 1×裂解液。

标准溶液准备

提前将待用试剂置于冰上解冻，用裂解液稀释 ATP 标准溶液稀释成适当的浓度梯度。初次检测可设置浓度范围为 1-5,000 nM (如 0.01 μ M, 0.03 μ M, 0.1 μ M, 0.3 μ M, 1 μ M, 3 μ M, 5 μ M)。在后续实验中可以根据样品中 ATP 浓度对标准品的浓度范围进行适当调整。



ATP 检测工作液配制

参考下表配制 ATP 检测工作液（可根据实际情况参考上表进行等倍放大）。

组分	体积/ μL
ATP 检测试剂 A (100 \times)	40 μL
ATP 检测试剂 B (10 \times)	400 μL
ATP 检测试剂 D (100 \times)	40 μL
1 \times ATP 检测缓冲液	3520 μL
总体积	4 mL

样品准备

1. 贴壁细胞

(1) 吸除培养液，按照 6 孔板每孔加入 150-200 μL （约 1/10 细胞培养液体积）裂解液裂解细胞。可使用移液器吹吸裂解液使细胞充分裂解。

(2) 4 $^{\circ}\text{C}$ 12,000 g 离心 5 min，取上清即为待测样品。

2. 悬浮细胞

(1) 离心收集细胞，按照 6 孔板每孔加入 200 μL （1/10 细胞培养液体积）裂解液裂解细胞。可使用移液器吹吸裂解液使细胞充分裂解。

(2) 4 $^{\circ}\text{C}$ ，12,000 g 离心 5 min，取上清即为待测样品。

3. 组织细胞

(1) 按照每 20 mg 组织加入 100-200 μL 裂解液，用玻璃匀浆仪或其他匀浆仪进行匀浆使组织完全裂解。

(2) 4 $^{\circ}\text{C}$ ，12,000 g 离心 5 min，取上清即为待测样品。

检测

1. 在所有检测孔中加入 100 μL ATP 检测工作液，室温孵育 3-5 min 消耗本底 ATP。

2. 化学发光仪 (Luminometer) 或多功能酶标仪设置好检测条件，在检测孔中加入 10 μL 样品或标准品，震荡 5 s 混匀。立即使用化学发光仪或多功能酶标仪测定 RLU。

3. 标准曲线绘制：以 ATP 浓度 (nM) 为横坐标，RLU 为纵坐标绘制标准曲线(如下图示例)。

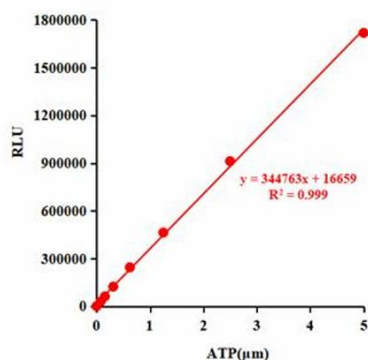
4. 根据标准曲线计算出样品中 ATP 浓度。

注：(1) 样品体积可根据样品中 ATP 浓度在 10-100 μL 范围内进行调整，但标准品体积需与待测样品体积保持一致。

(2) 如果待测样品中 ATP 浓度过高，可用 1 \times ATP 检测缓冲液稀释后再进行检测。

(3) 本试剂盒在 1 nM-5,000 nM 标准品体系中有良好的线性关系。

(4) 也可以通过 BCA 法检测样品中蛋白浓度，并以蛋白含量对 ATP 含量进行归一化，最终结果可表示为 ATP 含量 (nmol/mg)。



ATP 标准曲线示例（仅供参考）