

使用说明书

Instruction Manual

TargetMol
YOUR TARGET MOLECULES

ATP 含量检测试剂盒

ATP Assay Kit

产品描述

TargetMol 的 ATP 含量检测试剂盒是一种用于定量检测细胞或组织样品中三磷酸腺苷 (ATP) 含量的高灵敏度化学发光检测试剂。ATP 是细胞内最重要的能量供体, 广泛参与细胞代谢、信号转导及生理功能调控, 其含量水平可直接反映细胞活力、代谢状态及损伤程度, 因此常被用作评价细胞生存状态和能量代谢的重要指标。

本试剂盒基于荧光素-荧光素酶 (Luciferin-Firefly Luciferase) 发光反应原理: 在荧光素酶的催化作用下, ATP 驱动荧光素氧化生成激发态产物并释放可检测的化学发光信号, 发光强度与样品中 ATP 含量呈良好的线性关系。该方法灵敏度高、背景低、响应快速, 可实现对 ATP 的准确定量分析。

产品信息

100 T 规格的产品组成如下:

产品编号	产品名称	产品包装
C0212-1	ATP 检测试剂 (10×) (ATP Detection Reagent)	250 μL*2
C0212-2	ATP 检测试剂稀释液 (ATP Detection Reagent Diluent)	5 mL
C0212-3	ATP 标准溶液 (0.5 mM) (ATP Standard Solution)	500 μL
C0212-4	ATP 检测裂解液 (ATP Detection Lysis Buffer)	30 mL

产品特点

- 样品制备简便: 配套专用裂解液, 可直接裂解细胞或组织样品, 无需复杂的 ATP 抽提或煮沸处理。
- 高灵敏度检测: 线性范围宽, 在 0.1 nM-10 μM 范围内有良好检测效果, 满足常规细胞与组织样品检测需求。
- 发光信号稳定: 化学发光信号衰减小, 读数稳定, 结果可靠。ATP 标准曲线的检测结果显示, 孵育 10 min 后检测, 在 120 min 内化学发光无明显下降。
- 样品兼容性好: 裂解后的样品可同时用于 ATP 检测及后续蛋白相关实验。
- 操作高效省时: 检测流程快速, 30-60 min 内即可完成多样品测定。

产品应用

用于定量检测细胞或组织样品中的 ATP 含量, 广泛应用于细胞活力评估、药物毒性与药效筛选、能量代谢研究以及细胞损伤与凋亡相关研究。

使用说明

1. 样品准备 (建议在 4°C 或冰上进行)

1) 贴壁细胞

吸尽培养基后, 按培养板规格加入相应体积的裂解液 (6 孔板每孔约 200 μL, 96 孔板每孔约 50 μL, 384 孔板每孔约 25 μL)。轻轻晃动培养板或用移液器反复吹打, 使裂解液充分覆盖并裂解细胞。细胞通常在接触裂解液后迅速裂解。裂解完成后, 于 4°C, 12,000 g 离心 5 min, 取上清用于后续 ATP 含量检测。

2) 悬浮细胞

将细胞悬液离心收集细胞沉淀, 弃去上清后轻轻重悬细胞。按与贴壁细胞相同的细胞量比例加入裂解液 (6 孔板每孔约 200 μL, 96 孔板每孔约 50 μL, 384 孔板每孔约 25 μL), 轻轻吹打、弹击管底或短暂振荡以促进充分裂解。裂解后于 4°C, 12,000 g 离心 5 min, 取上清用于检测。

3) 组织样品

按每 20 mg 组织加入约 100–200 μL 裂解液的比例加入裂解液，使用玻璃匀浆器或其他合适的匀浆设备充分匀浆，以确保组织完全裂解。裂解完成后，于 4°C，12,000 g 离心 5 min，取上清用于检测。

2. 标准溶液准备 (选做)

1) 将 ATP 标准溶液及相关试剂置于冰上缓慢融化。使用 ATP 检测裂解液对 ATP 标准溶液进行梯度稀释，配制一系列不同浓度的 ATP 标准品。标准品浓度范围应根据待测样品中 ATP 含量进行合理设定。一般建议以 10 μM 为起始浓度，按 3 倍递减方式连续稀释，制备 8 个浓度梯度用于绘制标准曲线。

2) 后续实验中，可根据实际样品中 ATP 含量水平，对标准品的起始浓度及梯度范围进行适当调整，以获得最佳线性关系。

注：在进行 6 孔板样品检测时建议同时绘制 ATP 标准曲线以实现绝对定量；对于 96 孔板或 384 孔板样品，如仅用于比较相对 ATP 含量，可根据实验需求选择是否制作标准曲线。

3. ATP 检测工作液配制

1) 根据实验设计计算所需 ATP 检测工作液的总体积，每个样品或标准品建议使用约 50 μL ATP 检测工作液。

2) 将 ATP 检测试剂及相关试剂置于冰上缓慢融化。取适量 ATP 检测试剂，按 1:9 (v/v) 的比例加入 ATP 检测试剂稀释液进行稀释，充分混匀后即成为 ATP 检测工作液。

注：配制完成的 ATP 检测工作液建议现配现用，如需短时间保存，可置于冰浴条件下暂存。

4. ATP 含量检测

1) 对于 6 孔板样品

a. 在白色不透光 96 孔板的检测孔或专用检测管中，预先加入 50 μL ATP 检测工作液，于室温静置 5 min，以消耗体系中的背景 ATP、降低本底信号。为提高效率，可一次性为 10–20 个检测孔或检测管同时加入检测工作液。

b. 向上述孔或检测管中加入 50 μL 样品上清或 ATP 标准品，轻轻震荡混匀 5 min，随后在室温避光条件下孵育 10 min。孵育完成后，使用化学发光仪 (Luminometer) 或液闪仪进行检测，记录 RLU 值或 CPM 值，推荐检测时间为每孔 1 s。

2) 对于 96 孔板或 384 孔板样品 (适用于细胞直接培养于白色不透光孔板中的情况)

a. 将待测培养板从培养环境中取出，放置至室温平衡。随后向每孔加入 ATP 裂解液：96 孔板每孔 50 μL ；384 孔板每孔 25 μL 。轻轻震荡 5 min，以充分裂解细胞并释放 ATP。

b. 向各孔中加入相应体积的 ATP 检测工作液 (96 孔板每孔 50 μL ，384 孔板每孔 25 μL)，震荡混匀 5 min，并在室温避光条件下孵育 10 min。随后使用化学发光仪或液闪仪进行检测，推荐检测时间为每孔 1 s。

注：96 孔板中每孔总体积为：培养基 100 μL + ATP 裂解液 50 μL + ATP 检测工作液 50 μL

384 孔板中每孔总体积为：培养基 50 μL + ATP 裂解液 25 μL + ATP 检测工作液 25 μL

3) 数据计算与归一化

c. 根据 ATP 标准曲线，计算各样品中 ATP 的浓度。

d. 为减少样品间因细胞数量或蛋白含量差异带来的影响，建议使用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (C0050) 测定样品蛋白含量，并将 ATP 含量结果换算为 nmol /mg 蛋白的形式进行分析。

储存条件

-20°C 保存，半年有效；-80°C 保存，一年有效。C0212-1 需避光保存。

注意事项

1. ATP 检测试剂含有荧光素酶，反复冻融可能导致酶活下降，建议分装保存，稀释后的工作液建议现配现用，不宜冻存。

2. ATP 在裂解后不稳定，样品制备及检测过程建议在 4°C 或冰上进行，ATP 在冰上可稳定约 6 h。

3. 本试剂盒需配合化学发光仪使用，如无该设备亦可使用液闪仪，但检测灵敏度取决于仪器性能。

4. 使用可检测化学发光的多功能酶标仪时，推荐使用不透光的 96 孔白板或黑板，以减少孔间串扰并提高检测灵敏度。

5. 若检测到样品中 ATP 水平明显低于预期，可在裂解后、离心前取部分样品煮沸 2 min 以充分释放 ATP，再进行检测。经煮沸处理的样品中蛋白已变性，不适用于蛋白定量、SDS-PAGE 等实验，相关分析请使用未煮沸的平行样品。

6. 本品仅适用于专业科研用途，严禁用于临床诊断、治疗、食品或药品领域，且不得存放于住宅等非专业场所。

7. 本产品对皮肤、眼睛和呼吸道有刺激性，为保障操作安全与人员健康，操作时请务必穿戴实验服并佩戴一次性手套。

