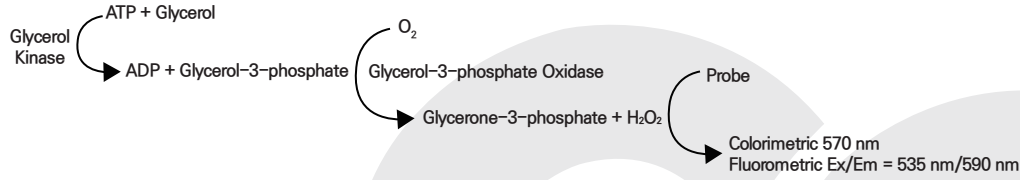


PicoSens™ ATP Assay Kit (Colorimetric / Fluorometric)

(BM-ATP-100, 100 assays, Store at -20°C)

실험 원리



BIOMAX PicoSens™ ATP Assay Kit (Colorimetric/Fluorometric)에서 Glycerol(Glycerol-6-phosphate)의 인산화과정에서 발생하는 H₂O₂와 Probe가 반응하여 흡광도 570 nm, 형광 Excitation/Emission = 535 nm/590 nm에서 측정되며 이는 ATP 농도 의존적으로 인산화가 되는 과정으로 Sample 내의 ATP의 양을 확인할 수 있습니다.

제품의 구성 및 보관 조건

Components	Size	Storage
ATP Assay Buffer	25 mL	-20°C
ATP Enzyme mix (Lyophilized)	1 vial	
ATP Converter	200 µL	
ATP Probe	200 µL	
ATP Standard (10 mM)	100 µL	

* 개봉하지 않은 제품은 빛을 차단한 상태에서 -20 °C 보관 시 1 년간 안정적입니다.

검사 필요 장비 및 소모품

- ▶ 96-well Microplate (Clear, Flat bottom)
- ▶ Pipette & Sterile tips
- ▶ Colorimetric microplate reader (570 nm filter) or Fluorometric microplate reader (Excitation/Emission = 535 nm/590 nm filter)

실험 전 준비사항 및 보관방법

- ▶ 제품의 모든 구성품은 상온에서 놔두어 완전히 녹인 후 사용합니다.
- ▶ Vial 뚜껑 내부에 시약이 묻어 있을 수 있으니 개봉 전 원심 분리합니다.
- ▶ **ATP Assay Buffer** : 사용 후 4 °C 또는 -20 °C에 보관합니다.
- ▶ **ATP Enzyme Mix** : ATP Assay Buffer 220 µL를 넣고 녹입니다. 사용 후 -20 °C에 보관할 수 있으며 2 개월 이내에 사용합니다.
- ▶ **ATP Converter** : 사용 후 -20 °C에 보관할 수 있으며 2 개월 이내에 사용합니다.
- ▶ **ATP Probe** : 사용 후 -20 °C에 보관할 수 있으며 2 개월 이내에 사용합니다.
- ▶ **ATP Standard** : 사용 후 -20 °C에 보관할 수 있으며 2 개월 이내에 사용합니다.

Sample type

- Animal tissues: Liver, Muscle etc.
- Cell culture : Adherent or Suspension cells

Sample preparation

Tissue / Cell lysate

Homogenized한 10 mg 정도의 Tissue 또는 1 X 10⁶ Cell lysate에 100 µL의 ATP Assay Buffer을 넣고 섞어 줍니다. 이때, Cell lysate나 Tissue의 Deproteinize가 필요할 수 있습니다.

※ 시료 결과에 영향을 줄 수 있는 단백질, 지질 또는 Turbidity를 제거하기 위한 전처리가 필요할 시 당사로 문의 바랍니다. (Cat# BM-CAR)

실험 과정

- * 미지의 Sample 또는 처음 측정하는 Sample 의 경우 측정값이 Standard curve 내에 위치하도록 예비실험 진행한 후 사용을 권장합니다.
- * Sample의 측정 값이 높은 Background 값을 가지면 측정에 사용한 동일 양의 Sample을 Background control로 준비합니다.
- * Standard는 실험할 때마다 Standard solution으로 희석하여 사용하며 희석한 Standard solution은 재사용하지 마십시오.

Colorimetric method

Standard preparation

- 10 mM ATP Standard 10 μl 와 D.W. 90 μl 를 혼합하여 1 mM Standard solution을 만들어 아래 표와 같이 만듭니다.

STD No.	Vol. of 1 mM Standard solution (μl)*	Assay Buffer (μl)*	Final STD Vol. in well ($\mu\text{l}/\text{well}$)	Final STD Amount in well (nmol/well)
Blank	0	50	50	0
2	2	48	50	2
3	4	46	50	4
4	6	44	50	6
5	8	42	50	8
6	10	40	50	10

* Single test 기준입니다. Duplicate 또는 Triplicate 이상을 권장합니다.

- 준비된 Sample 2~50 μl 를 96-well Microplate에 분주 후 최종 Volume은 ATP Assay Buffer로 50 μl 가 되도록 조정합니다.
- 준비된 Standard solution을 각 Well에 50 μl 씩 분주합니다.
- Reaction mix를 아래와 같이 만들어 준비합니다.
* 높은 Background를 갖는 Sample의 경우 Background control mix를 준비합니다.

Kit components (Colorimetric)	Mix	
	Reaction (50 $\mu\text{l}/\text{well}$)	Background Control (50 $\mu\text{l}/\text{well}$)
Assay Buffer	44 μl	46 μl
Enzyme Mix	2 μl	- μl
Converter	2 μl	2 μl
Probe	2 μl	2 μl

* 50 $\mu\text{l}/\text{well}$ 기준으로 Sample과 Standard well 수를 고려하되 총 소요량보다 약 10% 많은 Reaction mix를 준비합니다. (사용 전 Spin-down)

- Sample과 Standard solution을 분주한 Well에 혼합한 Reaction mix를 50 μl 씩 분주합니다.
- 높은 Background를 갖는 Sample의 경우 준비한 Background control well에 Background control mix 50 μl 를 분주합니다.
- 빛을 차단하여 상온에서 30 min 동안 Incubation 후 Microplate reader로 흡광도 570 nm에서 측정합니다.

Fluorometric method

Standard preparation

- 10 mM ATP Standard 10 μl 와 D.W. 90 μl 를 혼합하여 1 mM Standard solution을 만듭니다.
- 1 mM standard solution 10 μl 와 D.W. 90 μl 를 혼합하여 100 μM standard solution을 만들어 아래 표와 같이 만듭니다.

STD No.	Vol. of 100 μM Standard solution (μl)*	Assay Buffer (μl)*	Final STD Vol. in well ($\mu\text{l}/\text{well}$)	Final STD Amount in well (nmol/well)
Blank	0	50	50	0
2	2	48	50	0.2
3	4	46	50	0.4
4	6	44	50	0.6
5	8	42	50	0.8
6	10	40	50	1.0

* Single test 기준입니다. Duplicate 또는 Triplicate 이상을 권장합니다.

- 준비된 Sample 2~50 μl 를 96-well Microplate에 분주 후 최종 Volume은 ATP Assay Buffer로 50 μl 가 되도록 조정합니다.
- 준비된 Standard solution을 각 Well에 50 μl 씩 분주합니다.
- Reaction mix를 아래와 같이 만들어 준비합니다.
* 높은 Background를 갖는 Sample의 경우 Background control mix를 준비합니다.

Kit components (Fluorometric)	Mix	
	Reaction (50 $\mu\text{l}/\text{well}$)	Background Control (50 $\mu\text{l}/\text{well}$)
Assay Buffer	45.6 μl	47.6 μl
Enzyme Mix	2 μl	- μl
Converter	2 μl	2 μl
Probe	0.4 μl	0.4 μl

* 50 $\mu\text{l}/\text{well}$ 기준으로 Sample과 Standard well 수를 고려하되 총 소요량보다 약 10% 많은 Reaction mix를 준비합니다. (사용 전 Spin-down)

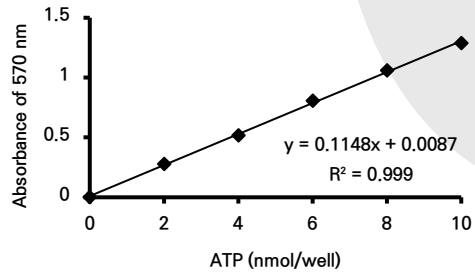
- Sample과 Standard solution을 분주한 Well에 혼합한 Reaction mix를 50 μl 씩 분주합니다.
* 높은 Background를 갖는 Sample의 경우 준비한 Background control well에 Background control mix 50 μl 를 분주합니다.
- 빛을 차단하여 상온에서 30 min 동안 Incubation 후 Fluorometric microplate reader로 Excitation/Emission = 535 nm/590 nm 에서 측정합니다.

결과 분석

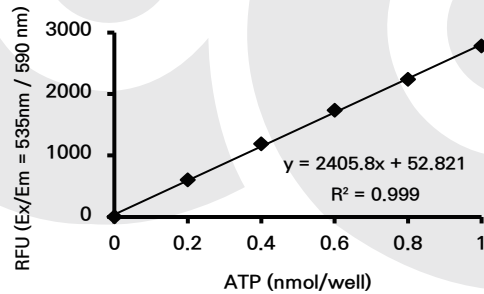
- ATP molecular weight : 507.18 g/mol
 - 각 Standard well과 Sample well의 Duplicate 또는 Triplicate 측정값의 평균값을 구합니다.
 - 모든 측정값에서 Blank 값을 뺍니다.
- * Sample background control을 설정한 경우 Sample의 측정값에서 Sample background control 측정값과 Blank 측정 값을 모두 뺍니다.
- Standard curve에 Sample의 OD 값을 대입하여 구한 ATP의 양으로 다음 식을 이용하여 Sample 내 ATP의 농도를 구합니다.

$$C \text{ (nmol/}\mu\text{l or }\mu\text{mol/ml or mM)} = B/V \times D$$

- C : Sample의 ATP 농도 (nmol/ μ l)
- B : 측정 Well의 ATP 양 (nmol)
- V : Well에 분주한 Sample의 부피 (μ l)
- D : Sample 희석 배율



ATP standard curve (Colorimetric)



ATP standard curve (Fluorometric)

Related products

- BM-ACC-100 PicoSens™ Ascorbic Acid Assay Kit (Colorimetric/Fluorometric)
- BM-NDH-100 PicoSens™ NAD/NADH Assay Kit (Colorimetric)

* 안전한 사용을 위해 유해물질 정보는 MSDS를 참조하십시오.