

Intracellular ATP 測定用
ATP 抽出試薬 4 本セット Ver.2
(IC2-106-4)

取扱説明書

I. 試薬の概要	2
II. 製品構成	2
III. 使用方法	3
IV. 使用上の注意	4

保存温度	4°C以下
使用期限	外箱に記載

I. 試薬の概要

Intracellular ATP 測定用 ATP 抽出試薬 4 本セット Ver.2 「IC2-106-4」は、Intracellular ATP 測定キット Ver.2 「IC2-100」に含まれる ATP 抽出試薬の単品セットです。

Intracellular ATP 測定キット Ver.2 は、動物培養細胞から速やかにアデノシン三リン酸(ATP)を抽出し、抽出した ATP 量をホタル・ルシフェラーゼ発光法により定量する試薬です。専用の ATP 抽出試薬により、細胞中の ATP を効率よく抽出でき、ATP 量を高感度に測定することが出来ます。また、本キットに含まれる ATP 抽出試薬は、タンパク質の抽出効率も良いため、ATP 抽出したサンプルをそのままタンパク質アッセイに用いることが可能です。

ホタル・ルシフェラーゼ発光反応は、ルシフェラーゼによるルシフェリンの酸化を通して光を生じる反応です。ルシフェリンは、ルシフェラーゼ、マグネシウムイオン(Mg^{2+})の存在下において ATP と反応した後、酸素(O_2)と反応して励起状態のオキシルルシフェリンを生成し、基底状態に戻る際に光を発生します(図 1)。

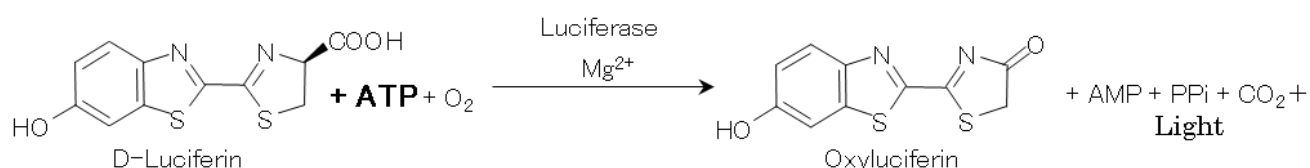


図 1. ホタル・ルシフェラーゼ発光反応機構

II. 製品構成

		製品	
		Intracellular ATP 測定キット Ver.2	Intracellular ATP 測定用 ATP 抽出試薬 4 本セット Ver.2
		100 回用 (IC2-100)	(IC2-106-4)
品名	ATP 発光試薬 Ver.2 (凍結乾燥品)	1 本	—
	ATP 発光試薬溶解液 (12 ml)	1 本	—
	ATP 抽出試薬 (12 ml)	1 本	4 本
	ATP 標準試薬 (1×10^{-3} M, 1ml)	1 本	—

Ⅲ. 使用方法

☞ 試薬への ATP の混入を防ぐため、全操作に渡り、手袋およびマスクの着用をお勧めします。

下記プロトコルのステップ③以降は、Intracellular ATP 測定キット Ver.2(IC2-100)に含まれる発光試薬が必要になります(別売品)。

＜測定プロトコル＞		動物培養細胞からの ATP の抽出・発光量の測定												
①	細胞培養	1. ウェルプレートで細胞を培養します。 2. 培地を除去し、PBS でウェルを洗浄します。 3. 室温に戻した ATP 抽出試薬を添加します。 <ATP 抽出試薬の添加量> <table border="1" style="margin-left: 40px;"> <thead> <tr> <th>プレートの種類</th> <th>添加量 (μl)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>96 well</td> <td>100</td> </tr> <tr> <td>48 well</td> <td>260</td> </tr> <tr> <td>24 well</td> <td>400</td> </tr> <tr> <td>12 well</td> <td>800</td> </tr> <tr> <td>6 well</td> <td>2000</td> </tr> </tbody> </table>	プレートの種類	添加量 (μl)	96 well	100	48 well	260	24 well	400	12 well	800	6 well	2000
プレートの種類	添加量 (μl)													
96 well	100													
48 well	260													
24 well	400													
12 well	800													
6 well	2000													
②	ATP 抽出	4. 室温で 5 分間攪拌し、細胞から ATP を抽出します。 ☞ ATP 抽出操作は、室温で行って下さい。氷中では、ATP の抽出が不十分となることがあります。 5. 細胞溶解液をチューブに回収し、氷中に移します。 ☞ 抽出した ATP は 30 分以内が特に安定です。ATP 抽出後は 30 分以内にステップ③の発光測定を終了することを推奨します。 ◆ATP を抽出した細胞溶解液は、そのままタンパク質測定のための検体として使用することが可能です。 ☞ タンパク質アッセイを行う場合は、界面活性剤に耐性のある試薬を使用して下さい(ex BCA 法)。												
③	発光測定	6. ATP を抽出した 5. の溶液から 10 μl を抜き取り、発光測定用チューブに移します。 7. 室温に戻した ATP 発光試薬(調製済)100 μl を添加し、軽く振って攪拌後、ルミノメーターで発光量を測定します。 ☞ ATP 発光試薬(調製済)を添加した後は、素早く測定を開始して下さい。また、ATP 発光試薬(調製済)の添加から測定開始までの時間を統一して下さい。タイムラグの差異は、発光量の減衰による測定誤差の原因となります。 ex) 発光試薬の添加から 5 秒後に測定を開始する												
④	ATP 量の算出	8. ATP 濃度と発光量から作成した検量線を用いて、検体中の ATP 量を算出します。												

VI. 使用上の注意

- ご使用前に必ず安全データシート(SDS)をお読み下さい。
- 本製品を研究用途以外には使用しないで下さい。
- 日本国内のみで使用して下さい。
- 使用期限と保存条件を必ず守って下さい。
- 本製品を火気に近づけないで下さい。
- 本製品の廃棄は、お客様の施設の廃棄ルールに従って処分して下さい。
- 本製品に使用する他の試薬・器具・機械は、使用前に必ず各々の使用説明書をよく読み、その指示に従って調整・準備を行って下さい。
- 本製品に使用する他の試薬・器具は必ず滅菌して下さい。
- 材質によっては、試薬の付着により腐食・変色する場合があります。試薬が付着した器具・機械は蒸留水でよく洗浄して下さい。
- 試薬類を誤って飲み込んだ場合は、応急処置として水を飲ませ、直ちに医師の診断を受けて下さい。
- 手袋、保護メガネ等により適切な身体保護を施し、試薬類の身体への接触を避けて下さい。試薬類が目に入った場合や皮膚に付着した場合は、応急処置として水で洗い流し、直ちに医師の診断を受けて下さい。
- その他、不明な点がございましたら、下記問い合わせ先までご連絡ください。(9:00～17:30)

問い合わせ先

東洋ビーネット(株)バイオプロダクツ部
〒104-0031 東京都中央区京橋二丁目2番1号
E-mail: bio@toyo-b-net.co.jp
HP: <http://www.toyo-b-net.co.jp/>