

三磷酸腺苷(ATP)检测试剂盒

(用于血清、血浆、细胞培养上清液和其它生物体内)

原理

ATP, 作为最重要的能量分子在细胞的各种生理、病理过程中起着重要作用。ATP 水平的改变, 会影响细胞的功能。通常细胞在凋亡、坏死或处于一些毒性状态下, ATP 水平会下降, 而高葡萄糖刺激等对于一些细胞可以上调细胞内 ATP 水平。通常 ATP 水平的下降表明线粒体的功能受损或下降, 在细胞凋亡时 ATP 水平的下降通常和线粒体的膜电位下降同时发生。

本实验采用比色法在酶标板上反应, 标准品和样品中的 ATP 与底物工作液显色, 在 550nm 处测 OD 值, ATP 浓度与 OD 值成正比, 可通过绘制标准曲线求出标本中 ATP 浓度。

试剂盒组成 (2-8℃保存)

酶标板 (Coated Wells)	96孔	标准品 (Standards): 8nmol/ml	0.5ml
底物工作液 (AAP Solution)	12ml	酶标抗体工作液 (Enzyme Conjugate)	2.4ml

准备试剂与收集血样

- 收集标本: 血清、血浆 (EDTA、柠檬酸盐、肝素抗凝)、细胞培养上清液、组织匀浆等尽早检测, 2-8℃保存 48 小时; 更长时间须冷冻 (-20℃或-70℃) 保存, 避免反复冻融。
- 标准品液配制: 设标准管 8 管, 第一管加蒸馏水 300ul, 第二至第八管加入蒸馏水 200ul。在第一管中加入 8nmol/ml 的标准品溶液 100ul 混匀后用加样器吸出 200ul, 移至第二管。如此反复作对倍稀释, 从第七管中吸出 200ul 弃去。第八管为空白对照。

检测程序

- 加样: 每孔各加入标准品或待测样品 5ul。
- 每孔加入底物工作液 100ul。37℃孵育 5 分钟读取 OD 值 A1。
- 每孔加酶标抗体工作液 20ul。振荡混匀后将反应板置 37℃15 分钟。
- 30 分钟内用酶标仪在 550nm 处测吸光值 A2。

结果计算与判断

- 所有 OD 值都应用 A2 减去 A1 后再行计算。
- 以标准品 2000、1000、500、250、125、62.5、31.2、0 nmol/L 为横坐标, OD 值为纵坐标, 在坐标纸上作图, 画出标准曲线。
- 根据样品 OD 值在该曲线图上查出相应 ATP 含量。

试剂盒性能

- 灵敏度: 最小的 ATP 检测浓度小于 16nmol/L。
- 特异性: 可同时检测重组或天然的 ATP。不与其它细胞因子有交叉反应。
- 重复性: 板内、板间变异系数均小于 10%。

注意事项

- 以上标准孔及待测样品均建议做复孔, 每次测定应同时做标准曲线。
- 板条开封后剩余板条要再封好, 保持板条干燥。
- 本试剂盒宜置 4℃冰箱保存。
- 本试剂盒仅用于科研, 不能用于临床诊断!
- 样本如果浑浊需要离心或稀释后检测。