

ATP 含量检测试剂盒（快速）

检测意义及原理：

三磷酸腺苷（adenosine 5'-triphosphate, ATP）广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中，是生物体内能量转换最基本的载体，其含量的变化直接反映各组织器官的能量代谢状态。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。通常细胞在凋亡、坏死或处于一些毒性状态下时，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。临床上检测组织器官 ATP 含量有助于缺血性疾病、神经衰弱性疾病、感染性疾病和肿瘤等多种疾病的早期诊断和疗效评估。

本试剂盒采用可见光比色法在酶标板上操作，标准品和待测样品中的 ATP 与显色液发生反应，在 810nm 处测 OD 值，ATP 含量与 OD 值成正比，可通过绘制标准曲线求出样品中 ATP 浓度。

试剂盒特点：

- 灵敏度高**：本试剂盒采用最新方法改良配方，可以检测到低达 0.1mmol/L 之下的 ATP。
- 特异性强**：本试剂盒基于最新科研成果而研发，对于 ATP 的检测具有高度专一性、不受其他因素影响的优点。
- 大通量操作**：本试剂盒反应敏感度适中，实验结果稳定，不会出现因为 1~2min 之时间差导致前后加样各组实验结果变化很大的情况。因此可一批次操作多个样本，从而提升实验效率。

试剂盒组分：（保存：2-8℃避光，有效期：1 年）

名 称	规格（48 T）	规格（96 T）
微孔板	8×6 条	8×12 条
ATP 标准品	1 支	1 支
缓冲液	2.5mL	5mL
催化液（-20℃避光保存）	0.5mL	1mL
底物剂	1 支	1 支
显色液 A	15mL	30mL
显色液 B	65mL	130mL
双蒸水	75mL	150mL
产品说明书	1 份	1 份

本试剂盒适用于血清、血浆、组织匀浆、细菌、细胞培养上清及其它样本。

需要自备试剂和器材：

- 酶标仪、离心机、匀浆器、天平、制冰机及实验室常规仪器。

2. 多种规格单通道移液器。
3. 不同规格的试管和离心管，加样槽、96 孔板。
4. 漩涡混匀器。
5. 去离子水或蒸馏水。

标本收集：

1. **组织标本：**将组织块用PBS漂洗干净，按照组织质量（g）：双蒸水体积（mL）为1:5~10的比例（建议称取约0.1g组织，加入1mL预冷双蒸水）进行冰浴匀浆，100℃加热提取10min，5000g 4℃离心15min，取上清混匀后置冰上待测。
2. **细菌或细胞标本：**按细胞数量（10⁴个）：双蒸水体积（mL）为500~1000:1的比例（建议500万细胞加入0.5mL预冷双蒸水）重悬浮细胞，置于冰水浴中匀浆破碎，后将细胞悬液于100℃沸水浴中加热提取10min，5000g 4℃离心15min，取上清混匀后置冰上待测。
3. **血清等液体标本：**取约 0.1mL 血清（浆），加入 1mL 双蒸水，冰浴匀浆，100℃加热提取 10min，5000g 4℃ 离心 15min，取上清液待测。

试剂准备：

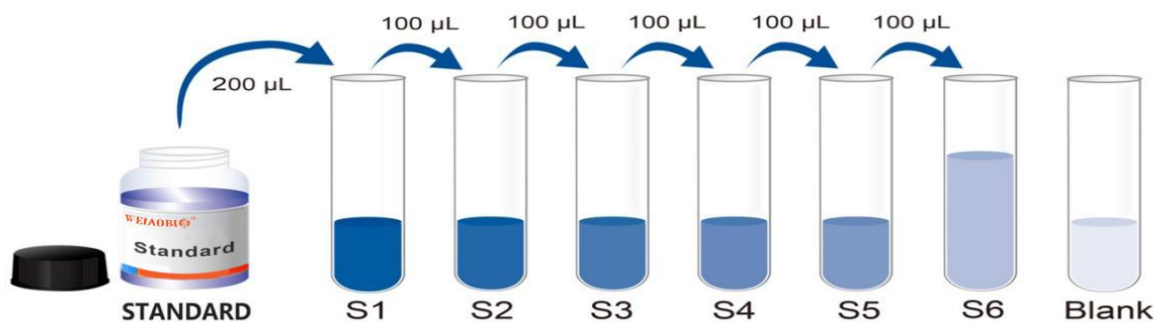
1. 标准品的配制：

A, ATP标准液配制：a, 0.1mol/L ATP标准储存液配制：在装有ATP标准品的离心管内，加入1mL双蒸水，混匀即得。
b, 5mmol/L ATP标准工作液：取10μL 0.1mol/L ATP标准储存液，用190μL的双蒸水稀释，即得5mmol/L ATP标准工作液。

B, 标准液浓度梯度配制（用户可以不）：取 7 个 1.5mL 离心管，分别标注 S1, S2, S3, S4, S5, S6, blank。

S2, S3, S4, S5, S6, blank 这六管中各加入提取液 100μL；第一管 S1 中加入 5mmol/L ATP 标准工作液 200μL，置于漩涡混合器上混匀后用加样器吸 100μL 移至第二管，如此反复作对倍稀释，第七管为空白对照。这样

S1, S2, S3, S4, S5, S6, blank 这七管标准品浓度分别为：5、2.5、1.25、0.625、0.3125、0.15625、0mmol/L。



注意：1，样品在什么溶液中，标准品也需用什么溶液稀释，这样可以减小误差。

2，初次测定后知道样品的浓度范围后，可以对标准品在样品浓度范围附近密集测定。

2. **底物液的配制：**在装有底物剂的试剂瓶中，加入10mL双蒸水，混匀；放入60℃以上水浴中预温使底物剂完全溶解（约10min），即得底物液。

注意：未用完的底物液放入4℃后会形成冰晶状结晶，下次使用时可以按上述方法重新溶解使用。

3. **反应液的配制：**以缓冲液：催化液：底物液 = 5：1：10配制而得。

注意：反应液需要现用现配。因此每次实验，请使用新配制的反应液。

4. **显色液的配制：**以显色液A液：显色液B液 = 1：5配制而得。

注意：新配制的显色液，一般可避光保存五天；建议最好现用现配。

检测程序：

1. 加待测样本：将配制好的标准液及待测样品各取 50μL 加入到 2.0mL 离心管中。
2. 加反应溶液：每个标准液及待测样品离心管内加入反应液 160μL，混匀。
3. 37℃ 反 应：将上述标准液及待测样品离心管放入 37℃水浴反应 30min。
4. 加显色溶液：每个标准液及待测样品离心管内加入显色液 1.5mL，混匀。
5. 孵育及读数：将上述标准液及待测样品离心管放入 37℃孵育 20min。每管转移 200ul 到酶标板中，在 810nm 处读 OD 值。

结果判断与计算：

1. 所有 OD 值建议减除空白孔值后再进行计算，如空白孔 OD 低于 0.1，也可以直接计算。
2. 以标准品浓度作横坐标，OD 值作纵坐标，手工绘制或用软件绘制标准曲线，根据样品 OD 值计算出相应含量，再乘以稀释倍数即可。

注意事项

1. 请自备 1.5mL/2.0mL 离心管及离心管架等常规检测设备及仪器。
2. 正式测定之前选择 2~3 个预期差异大的样本做预测定，以熟悉实验流程。
3. 检测时所有试剂都要恢复到室温，试剂盒开封后剩余试剂放回袋中 1 个月内用完。
4. 实验前请认真仔细阅读此说明书，说明书以试剂盒内纸质版为准。
5. 本试剂盒仅用于科研，不能用于临床诊断！
6. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性口罩和手套操作。