

ATP检测试剂盒 (100T)

一般说明

三磷酸腺苷(ATP)是一种仅在线粒体内形成的三磷酸核苷。这是一种高能分子, 被称为所有生命系统的能量货币。包含在ATP的磷酸键中的化学能量驱动着大多数的细胞过程。诸如Leber遗传性视神经病变、Leigh综合征、神经病、共济失调以及色素性视网膜炎等遗传疾病都会影响线粒体内的ATP生成。试剂盒原理用专门的试剂将细胞溶解, 释放出ATP, ATP在荧光素酶的作用下, 与底物D-荧光素反应产生光, 光的强度可直接用来测量细胞内ATP浓度。这种非放射性、均相的细胞检测在微孔板中进行, 该试剂适用于所有培养基和高通量药物筛选中应用的96孔板、384孔板和液体加样设备。最低检测 0.1 μM ATP 或 40个细胞。

应用

适于测定不同样品中的ATP, 如动物组织和细胞培养样品。

试剂盒规格

缓冲液:	10 mL
底物:	120 μL
ATP酶:	120 μL
标准品:	100 μL 3 mM ATP

储存: -20°C 保存。

检测步骤

1. 标准曲线。配备1000 μL 30 μM ATP 标准: 将5 μL 3 mM 标准品和495 μL 蒸馏水(若用于细胞测定, 则用细胞培养液稀释ATP标准)混匀。按照下表比例, 用蒸馏水(培养液)稀释样品。取白色不透明96孔板, 将10 μL 标准品放入不同孔中。

标号	30 μM + H ₂ O/培养液	终量 (μL)	(μM)
1	50 μL + 0 μL	50	30
2	40 μL + 10 μL	50	24
3	30 μL + 20 μL	50	18
4	20 μL + 30 μL	50	12
5	15 μL + 35 μL	50	9
6	10 μL + 40 μL	50	6
7	5 μL + 45 μL	50	3
8	0 μL + 50 μL	50	0

样品: 将10 μL 样品放入不同孔中。

对于组织样品: 将 20 mg 样品加入到200 μL 冷磷酸缓冲液PBS中均浆, 将捣碎的样品以12,000g速度离心5分钟。取 1-10 μL 上清液加入每个孔中, 加入PBS使样品总体积达到10 μL 。测试几组样品并选择标准曲线范围内的值用来计算ATP浓度。

对于悬浮细胞, 将10 μL 培养的细胞(10^3 - 10^4)转移到白色不透明的96孔板中。

对于粘附细胞, 在白色不透明微孔板中培养 10^3 - 10^4 个细胞。测定时, 在加入90 μL 反应试剂之前立即除去培养基。

2. 反应: 将所有试剂放至室温。测试过程中, 将解冻的ATP 酶放在冰上或 4°C 下保存。按比例将95 μL 缓冲液、1 μL 底物 和 1 μL ATP酶混匀, 配成反应试剂。在每个孔中加入 90 μL 反应试剂, 轻敲孔板使其混合。

3. 加入反应试剂后1分钟内, 在光度计上读取发光值。

注意事项

1、信号稳定性, 由于反应信号每分钟减少约1%, 所以测试样本和标准品的时间应相同。

2、本产品仅供研究用, 使用过程中应严格遵循实验安全措施。