



ATP 含量检测试剂盒

ATP Assay Kit

微量法

产品编号: AK415M

产品规格: 100T/48S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
AK415-A	粉剂×1 支	RT保存; 用时加10ml煮沸双蒸水溶解, 并沸水浴使溶解完全; 临用前观察如有结晶, 可沸水浴溶解后置于37℃保存待测。
AK415-B	20mL×1 瓶	4℃保存
AK415-C	粉剂×2 支	粉剂-20℃保存, 液体 4℃保存; 临用前一支液体加入到一支粉剂中溶解后使用。
	760μL×2 瓶	
AK415-D	5.5mL×1 瓶	4℃保存
AK415-E	E1:7mL×2 瓶	4℃保存, 用时取一瓶 E1 加入一瓶 E2 中, 充分混匀 4℃待用, 现用现配。(注: E2 在低温时可能会有絮状沉淀, 此时可以将其 60℃加热 10 分钟左右溶解后再使用)
	E2:6mL×2 瓶	
AK415-F	10mL×1 瓶	RT 保存
AK415-S	粉剂×1 支	4℃保存, 可先加双蒸水定容至 1ml, 制备 5mmol/L ATP 标准品贮备液, 用时再用双蒸水进行 5 倍稀释, 即为 1mmol/L ATP 标准品应用液。

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

意义: 三磷酸腺苷 (Adenosine triphosphate, ATP) 广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中, 为一种辅酶, 有改善机体代谢的作用, 参与体内脂肪、蛋白质、糖、核酸以及核苷酸的代谢, 是生物能量的主要来源。能荷是描述细胞能量代谢状态的主要参数, 测定ATP含量并且计算能荷, 能够反映能量代谢状态。

原理: 肌酸激酶催化肌酸和 ATP 反应生成磷酸肌酸, 可在 636nm 下用磷钼酸比色法检测磷酸肌酸含量, 以此反应 ATP 含量。

自备用品:

分光光度计/酶标仪、水浴锅、可调式移液枪、微量玻璃比色皿/96 孔板、研钵和蒸馏水。

ATP 提取:

1. 红细胞中 ATP 的提取:

抗凝全血取下层压积红细胞, 一般按 1: 4 的体积比加双蒸水进行稀释, 再混匀使溶血完全, 制备成溶血液。将制好的溶血液加入玻璃试管中沸水加热煮 10 分钟, 取出混匀抽提 1 分钟, 4000 转/分钟离心 10 分钟, 取上清液待测。

2. 组织样本中 ATP 的提取:

准确称取组织重, 按重量 (g): 体积 (ml) = 1: 9 的比例, 加入 9 倍体积的冷双蒸水, 冰水浴匀浆, 制成 10% 的匀浆液(取出部分 3500 转/分离心 10 分钟, 取上清测定蛋白浓度), 再置于沸水浴中煮 10 分钟, 取出混匀抽提 1 分钟, 3500 转/分离心 10 分钟, 取上清液待测。

3. 细胞中 ATP 的提取:

先离心处理将细胞与培养上清分离，除去培养上清，得到下层沉淀细胞（一般细胞数量达到 10^6 ），将收集好的细胞加入 300~500 μ L 冷双蒸水，置于冰水浴中匀浆破碎(取出部分测定蛋白浓度)，后将细胞悬液于沸水浴中加热 10 分钟，取出混匀抽提 1 分钟，即可用于测定。

注：混匀抽提 1 分钟即为漩涡混匀 1 分钟。

测定步骤：

1. 分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长到 636nm，蒸馏水调零。
2. 样本测定（在 EP 管中加入下列试剂）：

试剂名称	测定管(μ L)	对照管(μ L)	标准管(μ L)	空白管(μ L)
样本	30	30		
1mmol/L 标准液			30	30
AK415-A	100	100	100	100
AK415-B	200	200	200	200
AK415-C	30		30	
蒸馏水		30		30
充分混匀，37℃准确水浴 30min				
AK415-D	50	50	50	50
充分混匀后，4000rpm 离心 5 分钟，取上清液 300 μ L 进行测定				
上清液	60	60	60	60
AK415-E	100	100	100	100
混匀，室温静置 2 分钟				
AK415-F	100	100	100	100
混匀，室温静置 5 分钟，636nm 测各管吸光度值				

注意：空白管和标准管通常只需要各做 1-2 个，每个测定管设一个对照管。

ATP 含量计算公式：

1. 红细胞中 ATP 含量计算公式：

$$\text{ATP 含量 } (\mu\text{mol/gHb}) = [\text{C 标准管} \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \times \text{N}] \div \text{CHb}$$
2. 组织、细胞中 ATP 含量计算公式：

$$\text{ATP 含量 } (\mu\text{mol/g prot}) = [\text{C 标准管} \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \times \text{N}] \div \text{Cpr}$$

注：C 标准管：标准液浓度，1000 μ mol/L；N：样本测定前稀释倍数；CHb：血红蛋白浓度，gHb/L；Cpr：样本蛋白质浓度，g/L；

※ 蛋白定量检测建议使用本公司：BCA Protein Assay Kit (C05-02001)

注意事项：

1. AK415-E 配好后，不可放置太久，一般可保存五天，最好现用现配，随时放冰箱。
2. 此法具有微量、灵敏、快速的特点。对测定所用试管要求严格，要求不能有任何磷污染，建议最好用一次性塑料试管，避免磷污染是检测成败的关键。
3. 组织匀浆宜用 2%~5%浓度的匀浆上清，若样本浓度过高，则底色过深（对照管 OD 值过高），需稀释后再进行测定；一般通过做预试验将对照 OD 值控制在 1.0 以下。