



ATP 含量检测试剂盒

ATP Assay Kit

分光光度法

产品编号: AK415V

产品规格: 50T/24S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
ES415-酸性	25mL×1 瓶	4℃保存
ES415-碱性	25mL×1 瓶	4℃保存
AK415-A	粉剂×1 支	4℃保存; 临用前加入3.5mL蒸馏水充分溶解待用; 剩余试剂分装后-20℃保存, 禁止反复冻融
AK415-B	3mL×1 支	4℃保存
AK415-C	粉剂×1 瓶	4℃保存; 临用前加入 600μL 蒸馏水充分溶解待用; 剩余试剂分装后-20℃保存, 禁止反复冻融
AK415-D	10mL×1 瓶	4℃保存
AK415-E	50mL×1 瓶	4℃保存
AK415-S	1mL×1 瓶	0.5μmol/mL ATP 标准液, 4℃保存

※ 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 700nm 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. 血清 (浆) 中 ATP 的提取:

按照血清 (浆) 体积 (mL): ES415-酸性提取液体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议取约 0.1mL 血清 (浆), 加入 1mL ES415-酸性提取液), 进行冰浴匀浆, 8000g 4℃离心 10min; 取上清液至另一 EP 管中, 加入等体积的 ES415-碱性提取液使之中和, 混匀, 8000g 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测 (不可用于蛋白质含量测定)。

2. 组织中 ATP 的提取:

按照组织质量 (g): ES415-酸性提取液体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL ES415-酸性提取液), 进行冰浴匀浆, 8000g 4℃离心 10min, 取上清至另一 EP 管中, 加入等体积的 ES415-碱性提取液使之中和, 混匀, 8000g 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测 (不可用于蛋白质含量测定)。

3. 细胞或细菌中 ATP 的提取:

先收集细胞或细菌到离心管内, 弃上清, 按照细菌或细胞数量 (10^4 个): ES415-酸性提取液体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1mL ES415-酸性提取液), 超声波破碎 1min (冰浴, 强度 20% 或 200W, 超声 2s, 停 1s), 8000g 4℃离心 10min; 取上清液至另一 EP 管中, 加入等体积的 ES415-碱性提取液使之中和, 混匀, 8000g 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测 (不可用于蛋白质含量测定)。

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 700nm, 蒸馏水调零。
2. 显色剂的配制: 临用前请根据拟用显色剂体积 (样本数 \times 0.2 mL), 按 AK415-D (mL): AK415-E (mL) =1: 5 的比例配制, 用多少配多少。
3. 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		
标准液			30	30
AK415-A	60		60	
AK415-B	30	30	30	30
AK415-C	30		30	
蒸馏水		90		90
充分混匀, 37 $^{\circ}$ C 准确水浴 30min				
显色剂	600	600	600	600
37 $^{\circ}$ C 水浴 20min 后, 700nm 下测定各管吸光值				

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. 血清 (浆) 中 ATP 含量计算

$$\text{ATP 含量 } (\mu\text{mol/mL}) = [\text{C 标准管} \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \times \text{V1}] \div (\text{V3} \times \text{V1} \div \text{V2}) \\ = 5 \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管})$$

2. 组织、细菌或细胞中 ATP 含量计算

(1) 按蛋白浓度计算

$$\text{ATP 含量 } (\mu\text{mol/mg prot}) = [\text{C 标准管} \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \times \text{V1}] \div (\text{V1} \div \text{Cpr}) \\ = 0.5 \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \div \text{Cpr}$$

(2) 按样本鲜重计算

$$\text{ATP 含量 } (\mu\text{mol/g 鲜重}) = [\text{C 标准管} \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \times \text{V1}] \div (\text{W} \times \text{V1} \div \text{V2}) \\ = 0.5 \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \div \text{W}$$

(3) 按细菌或细胞密度计算

$$\text{ATP 含量 } (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = [\text{C 标准管} \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \times \text{V1}] \div (500 \times \text{V1} \div \text{V2}) \\ = 0.001 \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管})$$

注: C 标准管: 标准液浓度, 0.5 μ mol/mL; V1: 加入反应体系中样本体积, 0.03mL; V2: 加入提取液体积, 1mL; V3: 加入血清 (浆) 体积: 0.1mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; 500: 细胞或细菌总数, 500 万。

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

注意事项

最低检测限为 10nmol/mL 或 10nmol/g 鲜重或 0.1nmol/mg prot