



微信公众号

400-901-9800

sales@bioss.com.cn

techsupport@bioss.com.cn

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×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(μL)	对照管(μL)	标准管(μL)	空白管(μL)
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℃准确水浴 30min				
显色剂	600	600	600	600
37℃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

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

2. 组织、细菌或细胞中 ATP 含量计算

(1) 按蛋白浓度计算

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

(2) 按样本鲜重计算

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

(3) 按细菌或细胞密度计算

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

注：C 标准管：标准液浓度，0.5μmol/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