



## ATP 含量检测试剂盒 ATP Assay Kit

紫外分光光度法

产品编号: AK533U

产品规格: 50T/48S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
ES533-提取液	60mL×1 瓶	4℃保存; 提取液低温条件下, 可能有结晶析出, 置于 60℃水浴加热溶解即可, 不影响使用。
AK533-A	50mL×1 瓶	4℃保存
AK533-B	粉剂×1 支	4℃保存; 临用前加入7mL蒸馏水充分溶解, 可加热促进溶解; 4℃可保存4周;
AK533-C	8mL×1 瓶	4℃保存;
AK533-D	粉剂×3 支	-20℃保存; 临用前取 1 支加入 0.2mL 蒸馏水充分溶解; 剩余试剂分装后-20℃保存 2 周, 禁止反复冻融
AK533-E	粉剂×1 瓶	4℃保存; 临用前加入 3.2mL 蒸馏水充分溶解; 剩余试剂分装后-20℃保存 4 周, 禁止反复冻融
AK533-F	粉剂×3 支	-20℃保存; 临用前加入 0.25mL 蒸馏水充分溶解; 剩余试剂分装后-20℃保存 2 周, 禁止反复冻融
AK533-S	粉剂×1 支	-20℃保存; 临用前加入 0.826 mL 蒸馏水配成 10 umol/mL 的 ATP 标准溶液, 用不完的试剂-20℃分装保存 4 周, 避免反复冻融,

※ 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:** HK 催化葡萄糖和 ATP 合成 6-磷酸和葡萄糖, 6-磷酸和葡萄糖脱氢酶进一步催化 6-磷酸葡萄糖脱氢生成 NADPH, NADPH 在 340nm 有特征吸收峰, NADPH 和 ATP 含量成正比, 以此反应 ATP 含量。

自备用品:

紫外分光光度计、水浴锅、可调式移液枪、1ml 石英比色皿、研钵、氯仿、冰和蒸馏水。

ATP 提取:

1. 血清 (浆) 中 ATP 的提取:

按照血清 (浆) 体积 (mL) : ES533-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 ES533-提取液), 进行冰浴匀浆, 10000g 4℃离心 10min; 取上清液至另一 EP 管中, 加入 500ul 的氯仿, 混匀, 10000g 4℃离心 3min, 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) : ES533-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 ES533-提取液), 进行冰浴匀浆, 10000g 4℃离心 10min, 取上清至另一 EP 管中, 加入 500ul 的氯仿, 混匀, 10000g 4℃离心 3min, 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) : ES533-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 ES533-提取液), 超声波破碎 1min (冰浴, 强度 20% 或 200W, 超

声 2s, 停 1s), 10000g 4 °C 离心 10min; 取上清液至另一 EP 管中, 加入 500ul 的氯仿, 混匀, 10000g 4 °C 离心 3min, 取上清, 置冰上待测 (不可用于蛋白质含量测定)。

#### 测定步骤:

1. 分光光度计预热 30 min 以上, 调节波长到 340nm, 蒸馏水调零。
2. 标准溶液的稀释: 取 100uL 10umol/L ATP 标准溶液, 加入 1.5mL 蒸馏水, 充分混匀, 配制成 0.625umol/mL 标准液使用, 现用现配。(实验中每管需要 20uL, 为减小实验误差, 故配制大体积。)
3. 工作液的配制: 临用前请按试剂 B(mL): 试剂 C (mL): 试剂 D(mL): 试剂 E (mL): 试剂 F(mL)=1: 1: 0.1: 0.4: 0.1 的比例配制 (2.6mL, 约 10T 的量), 现配现用。
4. 试剂 A 在 37°C (哺乳动物) 或 25°C (其他物种) 预热 10min。
5. 样本测定:

试剂名称	测定管(μL)	标准管(μL)
样本	100	
0.625umol/mL 标准液		100
AK533-A	640	640
工作液	260	260

充分混合后, 立即测定 340nm 下 10s 的吸光值 A1, 然后将石英比色皿连同反应液一起放入 37°C(哺乳动物) 或 25°C (其他物种) 水浴锅中准确反应 3min, 拿出擦拭干净立即测定其在 3min10s 时的吸光值 A2。分别计算  $\Delta A$  测定=A2 测定-A1 测定,  $\Delta A$  标准=A2 标准-A1 标准。

#### ATP 含量计算公式

1. 血清 (浆) 中 ATP 含量计算

$$\text{ATP 含量}(\mu\text{mol/mL}) = \Delta A \text{ 测定} \div (\Delta A \text{ 标准} \div C \text{ 标准}) \times (V \text{ 提取} + V \text{ 血清 (浆)}) \div V \text{ 血清 (浆)}$$

$$= 6.875 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准}$$

2. 组织、细菌或细胞中 ATP 含量计算

(1) 按蛋白质量计算

$$\text{ATP 含量}(\mu\text{mol/g 质量}) = \Delta A \text{ 测定} \div (\Delta A \text{ 标准} \div C \text{ 标准}) \times V \text{ 提取} \div W = 0.625 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \div W$$

(2) 按细菌或细胞密度计算

$$\text{ATP 含量}(\mu\text{mol}/10^6 \text{ cell}) = \Delta A \text{ 测定} \div (\Delta A \text{ 标准} \div C \text{ 标准}) \times V \text{ 提取} \div 5 = 0.125 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准}$$

**注:** C 标准管: 标准液浓度, 0.625μmol/mL; V 提取: 加入提取液体积, 1mL; V 血清 (浆): 加入血清 (浆) 体积: 0.1mL; W: 样本质量, g; 5: 细胞或细菌总数, 5×10<sup>6</sup> 万。

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

#### 注意事项

1. 加入提取液离心后的上清若为浑浊为正常现象。
2. 如果吸光值大于 1.5, 建议将样本用蒸饮水稀释后进行测定。注意计算公式中乘以稀释倍数, 如果吸光值过低或接近空白, 建议加大样本量后进行测定, 注意同步修改计算公式。