

ATP Content Assay Kit

ATP 含量测定试剂盒(酶法) 分光法

| 产品编号 | 产品名称 | 规格 |
|--------|--------------------|-----|
| BL852A | ATP含量测定试剂盒(酶法) 分光法 | 48T |

产品简介:

ATP, 又称为三磷酸腺苷, 广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中, 是生物能量通货, 能荷是描述细胞能量代谢状态的主要参数。通常细胞在凋亡、坏死或处于一些毒性状态下, ATP 水平会下降; 在高葡萄糖等刺激可上调某些细胞内的 ATP 水平。而 ATP 水平的下降表明线粒体的功能受损或下降, 在细胞凋亡时 ATP 水平的下降通常和线粒体的膜电位下降同时发生。

本试剂盒通过 ATP 在己糖激酶和 6-磷酸葡萄糖脱氢酶的混合作用下, 使 ATP 水解并生产 NADPH, 通过检测 340nm 下 NADPH 的增加量, 进而计算得到 ATP 的含量。

产品组成:

| 试剂名称 | 规格 | 保存要求 | 备注 |
|------|-------------|---------|-------------------------------------|
| 提取液 | 液体 60mL×1 瓶 | 4°C保存 | |
| 试剂一 | 粉末 ×1 支 | 4°C保存 | 临用前甩几下或离心, 使粉剂落入底部, 再加 1.1mL 蒸馏水备用。 |
| 试剂二 | 粉末 ×1 支 | -20°C保存 | 临用前甩几下或离心, 使粉剂落入底部, 再加 1.1mL 蒸馏水备用。 |
| 试剂三 | 液体 33mL×1 瓶 | 4°C保存 | |
| 试剂四 | 粉末 ×1 支 | 4°C保存 | 临用前甩几下或离心, 使粉剂落入底部, 再加 1.1mL 蒸馏水备用。 |

使用方法:

建议正式实验前, 选取 2 个样本做预测定, 了解实验样品情况, 熟悉流程, 避免样本和试剂浪费!

一、样本准备

1. 组织样本准备:

- 称取约 0.1g 组织加入研钵中, 加入 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆;
- 12000rpm, 4°C离心 10min, 取上清液, 置冰上待测。

【注】: 也可以按照组织质量 (g): 提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例提取)。

2. 细菌/细胞样本准备:

- 收集细菌或细胞到离心管内, 离心弃上清;
- 取 5×10^6 个细菌或细胞加入 1mL 提取液, 冰浴超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 强度 20% 或 200W, 超声 3S, 间隔 10S, 重复 30 次);
- 12000rpm, 4°C离心 10min, 取上清液, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照每 $0.5 \sim 1 \times 10^7$ 个细菌/细胞加入 1mL 提取液进行提取。

3. 液体样本准备:

澄清的液体直接检测; 若浑浊则离心后取上清检测。

4. 高蛋白含量样本:

4-1:

- 称取约 0.1g 组织加入研钵中, 加入 1mL 蒸馏水, 进行匀浆;
- 匀浆液转至离心管中, 于 95°C水浴中煮 5min, 取出冷却至室温后于 12000rpm, 室温离心 10min, 上清液待测。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



4-2:

- (a) 或称取约 0.1g 组织加入研钵中，加入 0.5mL 高氯酸（0.5M），进行冰浴匀浆；
- (b) 8000rpm，4℃离心 10min，取全部上清至另一离心管中，加入与上步所取上清液等体积的 KOH 或 NaOH（0.5M）混匀，使整个液体 PH 近中性；
- (c) 若澄清直接检测，若浑浊则 8000rpm，4℃离心 5min 后取上清液测定，此时整个上清液体积记为 V3。

二、样品测定

1. 紫外分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 340nm，蒸馏水调零。
2. 在 1mL 石英比色皿（光径 1cm）中依次加入：

| 试剂名称（μL） | 测定管 |
|---|-----|
| 样本 | 40 |
| 试剂一 | 20 |
| 试剂二 | 20 |
| 试剂三 | 600 |
| 混匀，室温（25℃）下，5min 后于 340nm 处读取各管的 A1 值 | |
| 试剂四 | 20 |
| 混匀，室温（25℃）下，反应 30min 于 340nm 处读取各管的 A2 值。 $\Delta A = (A2 - A1)$ | |

【注】若 ΔA 的差值在零附近，可增加样本量（如 100μL，则试剂三相应减少）。改变后的样本加样量 V1 需代入公式重新计算。

三、含量计算

1. 按样本质量计算：

$$\text{ATP 含量}(\mu\text{mol/g 鲜重}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^6] \div (W \times V1 \div V) = 2.78 \times \Delta A \div W$$

2. 按细菌/细胞密度计算：

$$\text{ATP 含量}(\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^6] \div (500 \times V1 \div V) = 0.006 \times \Delta A$$

3. 液体中 ATP 含量计算：

$$\text{ATP 含量}(\mu\text{mol/mL}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^6] \div V1 = 2.78 \times \Delta A$$

4. 高蛋白样本中 ATP 含量计算：

$$\text{ATP 含量}(\mu\text{mol/g 鲜重}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^6] \div (W \times V1 \div V) = 2.78 \times \Delta A \div W$$

$$\text{ATP 含量}(\mu\text{mol/g 鲜重}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^6] \div (W \times V1 \div V3) = 2.78 \times \Delta A \div V3 \div W$$

ϵ ---NADPH 的摩尔吸光系数为 $6.3 \times 10^3 \text{L/mol/cm}$

d---光径距离，1cm

V---提取液体积，1mL

V1---样本体积，40μL=0.04mL

V2---反应总体积，700μL= 7×10^{-4} L

W--样本质量，g

ATP 分子量---551.14

注意事项：

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：

-20℃保存三个月。

