

ATP Content Assay Kit with Molybdophosphoric

ATP 含量测定试剂盒(磷钼酸比色法) 分光法

产品编号	产品名称	规格
BL851A	ATP含量测定试剂盒(磷钼酸比色法) 分光法	24T

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。

本试剂盒通过肌酸激酶催化 ATP 和肌酸生成磷酸肌酸, 用磷钼酸比色法进行检测, 经波长扫描产物在 700nm 处有最大吸收峰, 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 A	液体 15ml×1 瓶	4°C保存	
提取液 B	液体 3ml×1 瓶	4°C保存	
试剂一	粉末 ×2 支	-20°C保存	用前, 每支加入 1.1mL 蒸馏水充分溶解待用; 用不完的试剂分装后 -20°C保存, 禁止反复冻融。
试剂二	液体 6mL×1 瓶	4°C保存	
试剂三	粉末 ×1 支	-20°C保存	用前加入 1mL 蒸馏水充分溶解待用; 用不完的试剂分装后 -20°C保存, 禁止反复冻融。
试剂四	粉末 ×1 瓶	4°C保存	用前离心使粉末落入底部, 加入 4.3mL 蒸馏水充分溶解混匀, 再加入 1.7mL 浓硫酸(浓硫酸务必缓慢加入, 注意防护)
试剂五	液体 30mL×1 瓶	4°C保存	
标准品	粉末 ×1 瓶	-20°C保存	用前, 准确称取 2mg 粉末即 ATP 至新的离心管中, 加入 1.7mL 蒸馏水溶解即为 2μmol/mL, 再稀释一倍成 1μmol/mL 标准品 (-20°C保存一周)。

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:

- 称取约 0.1g 组织加入研钵中, 加入 0.5mL 提取液 A, 进行匀浆, 转移至离心管中;
- 12000rpm, 室温离心 10min, 取 250μL 上清液至一新离心管中;
- 加入适量提取液 B, 调 pH 至中性 (6.5~8 之间均可), 再加蒸馏水定容至 0.5ml, 待用。

【注】: 也可按照组织质量 (g): 提取液 A 体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例进行提取。

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。



2. 细菌/细胞样本:

- 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 0.5mL 提取液 A，进行匀浆，低温超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 200W，超声 5s，间隔 10s，重复 30 次）；
- 12000rpm，室温离心 10min，取 250 μ L 上清液至一新离心管中；
- 加入适量提取液 B，调 pH 至中性（6.5~8 之间均可），再加蒸馏水定容至 0.5ml，待用。

【注】：也可按照每 $0.5 \sim 1 \times 10^7$ 个细菌/细胞加入 1mL 蒸馏水进行提取

3. 液体样本:

澄清直接检测，若浑浊则 12000rpm，4 $^{\circ}$ C 离心 5min，取上清液待测。

二、样品测定:

- 可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 700nm，蒸馏水调零。
- 反应液配制：按照试剂四：试剂五=1：5 的比例混匀，可用多少配多少量。
- 在离心管中依次加入：

试剂名称 (μ L)	测定管	对照管	标准管	空白管 (做一次)
样本	50	50	-	-
标准液	-	-	50	-
试剂一	50	-	50	-
试剂二	100	100	100	100
试剂三	30	-	30	-
蒸馏水	-	80	-	130
充分混匀，37 $^{\circ}$ C 水浴 30min				
反应液	480	480	480	480
混匀，37 $^{\circ}$ C 水浴 20min，液体全部转移至 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中，在 700nm 下读取各管吸光值 A（每个测定管需设一个对照管）。				

【注】：若 A 测定-A 对照的值小于 0.01，可以增加样本取样质量 W（如增至 0.2g）或增加样本加样量 V1（如由 50 μ L 增至 100 μ L，则试剂二相应减少）；标准管仍为 50 μ L，其他实际不变，改变后的取样质量 W 和加样体积 V1 需代入计算公式重新计算。

三、含量计算:

1. 按样本质量计算:

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

2. 按细菌/细胞密度计算:

$$\text{ATP 含量}(\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = [\text{C 标准} \times \text{V 标准} \times (\text{A 测定} - \text{A 对照}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \times \text{V1}] \div (500 \times \text{V1} \div \text{V}) = 2 \times (\text{A 测定} - \text{A 对照}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白})$$

3. 液体中 ATP 含量计算:

$$\text{ATP 含量}(\mu\text{mol/mL}) = [\text{C 标准} \times \text{V 标准} \times (\text{A 测定} - \text{A 对照}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \times \text{V1}] \div \text{V1} = (\text{A 测定} - \text{A 对照}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白})$$

C 标准---标准液浓度，1 μ mol/mL

V---加入提取液体积，1mL

V1---加入反应体系中样本体积，0.05mL

V 标准---标准品加样体积，0.05mL

W---样品质量，g

500---细胞或细菌总数，500 万

注意事项:

- 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。
- 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 $^{\circ}$ C 保存三个月。

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。

