上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co.， Ltd
电话：400-666-5481　传真：021-55068248
网址：www.shyuanye.com
邮箱：3008007435@qq.com

ATP 含量试剂盒(酶法) 分光法

货号：R32150-48T

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	2-8℃保存	
试剂一	粉末 × 1 支	2-8℃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℃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	2-8℃保存	
试剂四	粉末 × 1 支	2-8℃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。
标准品	粉末 × 1 支	-20℃保存	仅用来签定试剂盒中试剂是否正常(不参与结果计算)。配制方法：用前标准管(ATP)甩几下使粉剂落入底部，再加 0.5mL 蒸馏水混匀溶解即浓度为 20umol/mL(最好一周内用完)，再稀释 10 倍成 2umol/ml 的 ATP 后备用：按照加样表中的测定管操作(样本更换成备用浓度的标准品)。

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：

(a) 称取约 0.1g 组织加入研钵中，加入 1mL 提取液，进行冰浴匀浆；

(b) 12000rpm，4℃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：

(a) 收集细菌或细胞到离心管内，离心弃上清；

(b) 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）；

(c) 12000rpm，4℃离心 10min，取上清液，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照每 0.5~1×10 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：

(a) 称取约 0.1g 组织加入研钵中，加入 1mL 蒸馏水，进行匀浆；

(b) 匀浆液转至离心管中，于 95℃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。

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。 ΔA=（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：

ATP 含量(μmol/g 鲜重)= $[\Delta A\div(\varepsilon\times d)\times V2\times10^{6}]\div(W\times V1\div V)=2.78\times\Delta A\div W$

2. 按细菌/细胞密度计算：

ATP 含量(μmol/10 4 cell)=$[\Delta A\div(\varepsilon\times d)\times V2\times10^{6}]\div(500\times V1\div V)=0.006\times\Delta A$

3. 液体中 ATP 含量计算：

ATP 含量(μmol/mL)=$[\Delta A\div(\varepsilon\times d)\times V2\times10^{6}]\div V1=2.78\times\Delta A$

4. 高蛋白样本中 ATP 含量计算：

ATP 含量(μmol/g 鲜重)=$[\Delta A\div(\varepsilon\times d)\times V2\times10^{6}]\div(W\times V1\div V)=2.78\times\Delta A\div W$

ATP 含量(μmol/g 鲜重)=$[\Delta A\div(\varepsilon\times d)\times V2\times10^{6}]\div(W\times V1\div V3)=2.78\times\Delta A\div V3\div W$

ε---NADPH 的摩尔吸光系数为 6.3×10^{3}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。

保存条件：

-20℃保存六个月。