

ATP Content Assay Kit

ATP 含量测定试剂盒(酶法)

产品编号	产品名称	规格
BL852A	ATP含量测定试剂盒(酶法)	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℃保存	
试剂一	粉末 ×1 支	4℃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 36mL×1 瓶	4℃保存	
试剂四	粉末 ×1 支	4℃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;
- 10000-12000g, 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:

- 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);
- 10000-12000g, 4℃离心 10min, 取上清液, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照每 $5 \sim 10 \times 10^6$ 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。

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。



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 石英比色皿中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	空白管(做一次)
样本	40	-
试剂一	20	20
试剂二	20	20
试剂三	600	640
混匀, 室温 (25°C) 下, 5min 后于 340nm 处读取各管的 A1 值		
试剂四	20	20
混匀, 室温 (25°C) 下, 反应 30min 于 340nm 处读取各管的 A2 值, $\Delta A = (A2 - A1)$ 测定 - $(A2 - A1)$ 空白。		

【注】若 ΔA 的差值在零附近, 可增加样本量 (如 60μL, 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:

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

$\Delta A = (A2 - A1)$ 测定 - $(A2 - A1)$ 空白

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

$V1$ ---样本体积, $40\mu\text{L} = 0.04\text{mL}$

ATP 分子量---551.14

d ---光径距离, 1cm

V ---提取液体积, 1mL

$V2$ ---反应总体积, $700\mu\text{L} = 7 \times 10^{-4}\text{L}$

W ---样本质量, g

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°C 保存三个月。

