

ATP Content Assay Kit with Molybdophosphoric

ATP 含量测定试剂盒(磷钼酸比色法)

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)	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 1	液体 30mL×1 瓶	4°C保存	
提取液 2	液体 30mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	粉末 ×1 支	-20°C保存	用前加入 2.2mL 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 3mL×1 瓶	4°C保存	
试剂三	粉末 ×1 支	-20°C保存	用前加入 1.2mL 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	液体 5.5mL×1 瓶	4°C保存	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。
试剂五	液体 30mL×1 瓶	4°C保存	
标准液	液体 1.6mL×1 瓶	-20°C保存	

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 1, 进行冰浴匀浆;
- 10000-12000g, 4°C离心 10min, 取上清至另一离心管中;
- 加入 1mL 的提取液 2, 混匀, 若澄清直接检测, 若浑浊则 10000-12000g, 4°C离心 5min, 取上清液待测。

【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 1; 冰浴超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 强度

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。



20%或 200W, 超声 3S, 间隔 10S, 重复 30 次);

- (c) 10000-12000g, 4°C离心 10min, 取上清液至另一离心管中;
 (d) 加入 1mL 的提取液 2, 混匀, 若澄清直接检测, 若浑浊则 10000-12000g, 4°C离心 5min, 取上清液待测。

【注】: 也可按照每 5~10×10⁶ 个细菌/细胞加入 1mL 提取液 1 进行提取

3.液体样本准备:

- (a) 取 0.1mL 液体加入 1mL 提取液 1, 进行冰浴匀浆;
 (b) 10000-12000g, 4°C离心 10min, 取上清液至另一离心管中;
 (c) 加入 1mL 的提取液 2, 混匀, 若澄清直接检测, 若浑浊则 10000-12000g, 4°C离心 5min, 取上清液待测。

【注】: 也可以按照血清(浆)体积(mL): 提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例提取。

二、样品测定:

1. 可见分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 700nm, 蒸馏水调零。
 2. 在离心管中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	标准管	空白管 (做一次)
样本	40	40	-	-
标准液	-	-	40	40
试剂一	80	-	80	-
试剂二	40	40	40	40
试剂三	40	-	40	-
蒸馏水	-	120	-	120
充分混匀, 37°C水浴 30min				
反应液	520	520	520	520
混匀, 37°C水浴 20min, 液体全部转移至 1mL 玻璃比色皿中, 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 测定管值较小, 可以增加样本取样质量 (如至 0.2g) 或增加样本加样量 V1, 则相应的反应液可相应减少; 则改变后的取样质量 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:

$$\text{ATP 含量}(\mu\text{mol/g 鲜重}) = [\text{C 标准} \times (\text{A 测定} - \text{A 对照}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \times \text{V1}] \div (\text{W} \times \text{V1} \div \text{V}) \\ = 4 \times (\text{A 测定} - \text{A 对照}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div \text{W}$$

2、按细菌/细胞密度计算:

$$\text{ATP 含量}(\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = [\text{C 标准} \times (\text{A 测定} - \text{A 对照}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \times \text{V1}] \div (500 \times \text{V1} \div \text{V}) \\ = 0.008 \times (\text{A 测定} - \text{A 对照}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白})$$

3、液体中 ATP 含量计算:

$$\text{ATP 含量}(\mu\text{mol}/\text{mL}) = [\text{C 标准} \times (\text{A 测定} - \text{A 对照}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \times \text{V1}] \div (\text{V2} \times \text{V1} \div \text{V}) \\ = 40 \times (\text{A 测定} - \text{A 对照}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白})$$

C 标准---标准液浓度, 2μmol/mL

V---加入提取液体积, 2mL

V1---加入反应体系中样本体积, 0.04mL

V2---加入血清(浆)体积, 0.1mL

W---样品质量, g

500---细胞或细菌总数, 500 万

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。





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。

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。

电话: 400-600-4213

邮箱: techserv@labgic.com

