

ATP 含量检测试剂盒 (紫外分光光度法)

(本试剂盒仅供科研使用)

产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0120	ATP 含量检测试剂盒 (紫外分光光度法)	50 管/48 样

产品内容

名称	规格	储存条件
提取液	液体 50 mL×1 瓶	4°C
试剂一	液体 50 mL×1 瓶	4°C
试剂二	粉剂 ×1 瓶 (临用前加入 7mL 蒸馏水溶解, 可加热促进溶解)	4°C
试剂三	液体 8mL×1 瓶	4°C
试剂四	粉剂 ×2 支 (临用前每支加入 0.4mL 蒸馏水溶解, 可分装后 -20°C 保存, 避免反复冻融。)	-20°C
试剂五	粉剂 ×1 瓶 (临用前加入 3.2mL 蒸馏水。)	4°C
试剂六	粉剂 ×2 支 (临用前加入 0.5mL 蒸馏水 备用, 可分装后 -20°C 保存, 避免反复冻融。)	-20°C
标准品	粉剂 ×1 支 (5mg ATP, 临用前加入 0.826mL 蒸馏水配成 10μmol/mL 的 ATP 标准溶液。)	-20°C

一、产品说明

ATP 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。测定 ATP 含量并且计算能荷, 能够反映能量代谢状态。

HK 催化葡萄糖和 ATP 合成 6-磷酸葡萄糖, 6-磷酸葡萄糖脱氢酶进一步催化 6-磷酸葡萄糖脱氢生成 NADPH, NADPH 在 340nm 有特征吸收峰, NADPH 和 ATP 含量成正比, 以此反应 ATP 含量。

二、自备材料

紫外分光光度计、水浴锅、可调式移液枪、1mL 石英比色皿、研钵/匀浆器、蒸馏水和氯仿。

三、样品制备

1、组织: 按照组织质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液), 进行冰浴匀浆, 8000g 4°C 离心 10min, 取上清至另一 EP 管中, 加入 500μL 的氯仿充分震荡混匀, 10000g 4°C 离心 3min, 取上清, 置冰上待测 (不可用于蛋白质含量测定)。

2、细胞或细菌: 先收集细胞或细菌到离心管内, 弃上清, 按照细菌或细胞数量 (10⁴ 个): 提取液体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液), 超声波破碎 1min (冰浴, 强度 20% 或 200W, 超声 2s, 停 1s), 10000g 4°C 离心 10min; 取上清液至另一 EP 管中, 加入 500μL 的氯仿充分震荡混匀, 10000g 4°C 离心 3min, 取上清, 置冰上待测 (不可用于蛋白质含量测定)。

3、血清或血浆: 按照血清 (浆) 体积 (mL): 提取液体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议取约 0.1mL 血清 (浆), 加入 1mL 提取液), 充分震荡, 10000g, 4°C 离心 10min; 取上

清液至另一 EP 管中, 加入 500 μ L 的氯仿充分震荡混匀, 10000g 4 $^{\circ}$ C 离心 3min, 取上清, 置冰上待测 (不可用于蛋白质含量测定)

四、操作步骤

正式测定前, 必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

- 1、分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 340nm, 蒸馏水调零。
- 2、将 10 μ mol/mL 的 ATP 标准溶液用蒸馏水稀释 16 倍即 0.625 μ mol/mL 标准溶液备用。
- 3、工作液的配制: 临用前请按试剂二(mL): 试剂三(mL): 试剂四(mL): 试剂五 (mL): 试剂六(mL)=1: 1: 0.1: 0.4: 0.1 的比例配制, 现配现用。
- 4、样本测定:

试剂名称 (μ L)	测定管	标准管
样本	100	
标准液		100
试剂一	640	640
工作液	260	260

充分混合后, 立即测定 340nm 下 10s 的吸光值 A1, 然后将比色皿连同反应液一起放入 37 $^{\circ}$ C (哺乳动物) 或 25 $^{\circ}$ C (其他物种) 水浴中反应 3min, 拿出擦拭干净立即测定其在 3min10s 时的吸光值 A2。分别计算 ΔA 测定=A2 测定管-A1 测定管, ΔA 标准=A2 标准管-A1 标准管

五、ATP 含量计算

- 1、按样本鲜重计算:

$$\text{ATP 含量} (\mu\text{mol/g 鲜重}) = \Delta A \text{ 测定} \div (\Delta A \text{ 标准} \div C \text{ 标准}) \times V \text{ 提取} \div W$$

$$= 0.625 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \div W$$

- 2、按细胞或细菌密度计算:

$$\text{ATP 含量} (\mu\text{mol}/10^6 \text{ cell}) = \Delta A \text{ 测定} \div (\Delta A \text{ 标准} \div C \text{ 标准}) \times V \text{ 提取} \div 5$$

$$= 0.125 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准}$$

- 3、按血清或血浆体积计算

$$\text{ATP 含量} (\mu\text{mol/mL}) = \Delta A \text{ 测定} \div (\Delta A \text{ 标准} \div C \text{ 标准}) \times (V \text{ 提取} + V \text{ 血清 (浆)}) \div V \text{ 血清 (浆)}$$

$$= 6.875 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准}$$

C 标准管: 标准液浓度, 0.625 μ mol/mL; V 提取: 加入的提取液体积, 1mL; V 血清 (血浆): 血清 (浆) 体积, 0.1mL; W: 样本质量, g; 5: 细胞或细菌总数, 5×10^6 个。

六、注意事项

- 1、加入提取液离心后的上清若为浑浊为正常现象。
- 2、提取过程严格在冰浴条件下进行。
- 3、当吸光值大于 1.2 或者 ΔA 测定大于 1.2 时, 可以将样品稀释后进行测定。若吸光值小于 0.01, 则可以增加反应时间 (5min 或 10min) 来测定, 标准品需要增加同样的反应时间。