

使用说明书

Instruction Manual

ATP 含量检测试剂盒（微量法）

ATP Assay Kit (Microanalysis)

产品描述

三磷酸腺苷（Adenosine triphosphate, ATP）广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中，为一种辅酶，有改善机体代谢的作用，参与体内脂肪、蛋白质、糖、核酸以及核苷酸的代谢，是生物能量的主要来源。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。

检测原理

肌酸激酶催化肌酸和 ATP 反应生成磷酸肌酸，可在 700nm 下用磷钼酸比色法检测磷酸肌酸含量，以此反应 ATP 含量。

产品组成及储存条件

100T/48S 规格的产品组成如下：

组成	规格	储存条件
CB0032M-ES-Acidic	60mL×1 瓶	4℃保存。
CB0032M-ES-Basic	60mL×1 瓶	4℃保存。
CB0032M-A	粉剂×1 支	4℃保存；临用前加入 1mL 蒸馏水充分溶解待用； 剩余试剂分装后-20℃保存，禁止反复冻融。
CB0032M-B	1.5mL×1 支	4℃保存。
CB0032M-C	粉剂×1 瓶	4℃保存；临用前加入 500μL 蒸馏水充分溶解待用； 剩余试剂分装后-20℃保存，禁止反复冻融。
CB0032M-D	5mL×1 瓶	4℃保存。
CB0032M-E	25mL×1 瓶	4℃保存。
CB0032M-S	1mL×1 瓶	2μmol/mL ATP 标准液，4℃保存。

注：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

操作说明

一、自备用品：

分光光度计/酶标仪、水浴锅、可调式移液枪、微量玻璃比色皿/96 孔板、研钵和蒸馏水。

二、ATP 提取：

1. 血清（浆）中 ATP 的提取：

按照血清（浆）体积（mL）：CB0032M-ES-酸性提取液体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议取约 0.1mL 血清（浆），加入 1mL CB0032M-ES-酸性提取液），进行冰浴匀浆，8000g 4℃离心 10min；取上清液至另一 EP 管中，加入等体积的 CB0032M-ES-碱性提取液使之中和，混匀，8000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测（不可用于蛋白质含量测定）。

2. 组织中 ATP 的提取：

按照组织质量（g）：CB0032M-ES-酸性提取液体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL CB0032M-ES-酸性提取液），进行冰浴匀浆，8000g 4℃离心 10min，取上清至另一 EP 管中，加入等体积的 CB0032M-ES-碱性提取液使之中和，混匀，8000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测（不可用于蛋白质含量测定）。

3. 细胞或细菌中 ATP 的提取：

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（ 10^4 个）：CB0032M-ES-酸性提取液体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1mL CB0032M-ES-酸性提取液），超声波破碎 1min（冰浴，强度 20% 或 200W，超声 2s，停 1s），8000g 4℃离心 10min；取上清液至另一 EP 管中，加入等体积的 CB0032M-ES-碱性提取液使之中和，混匀，8000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测（不可用于蛋白质含量测定）。

三、测定步骤：

1. 分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长到 700nm，蒸馏水调零。
2. 显色剂的配制：临用前请根据拟用显色剂体积（样本数 $\times$ 0.87mL），按 CB0032M-D（mL）：CB0032M-E（mL）=1：5 的比例配制。用多少配多少。
3. 样本测定（在 EP 管中加入下列试剂）：

试剂名称	测定管 (μL)	对照管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
样本	10	10		
标准液			10	10
CB0032M-A	20		20	
CB0032M-B	10	10	10	10
CB0032M-C	10		10	
蒸馏水		30		30
充分混匀，37℃准确水浴 30min。				
显色剂	200	200	200	200
37℃水浴 20min 后，700nm 下测定各管吸光值。				

注：空白管和标准管通常只需要各做 1-2 个，每个测定管设一个对照管。

四、ATP 含量计算公式：

1. 血清（浆）中 ATP 含量计算

$$\text{ATP 含量 } (\mu\text{mol/mL}) = [\text{C 标准管} \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \times \text{V}_1] \div (\text{V}_3 \times \text{V}_1 \div \text{V}_2)$$

$$= 40 \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管})$$

2. 组织、细菌或细胞中 ATP 含量计算

（1）按蛋白浓度计算

$$\text{ATP 含量 } (\mu\text{mol/mg prot}) = [\text{C 标准管} \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \times \text{V}_1] \div (\text{V}_1 \div \text{Cpr})$$

$$= 2 \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \div \text{Cpr}$$

（2）按样本鲜重计算

$$\text{ATP 含量 } (\mu\text{mol/g 鲜重}) = [\text{C 标准管} \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \times \text{V}_1] \div (\text{W} \times \text{V}_1 \div \text{V}_2)$$

$$= 4 \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \div \text{W}$$

（3）按细菌或细胞密度计算

$$\text{ATP 含量 } (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = [\text{C 标准管} \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \times \text{V}_1] \div (500 \times \text{V}_1 \div \text{V}_2)$$

$$= 0.008 \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管})$$

注：C 标准管：标准液浓度，2μmol/mL；V₁：加入反应体系中样本体积，0.01mL；V₂：加入提取液体积，2mL；V₃：加入血清（浆）体积：0.1mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；500：细胞或细菌总数，500 万。

注意事项

1. 最低检测限为 10nmol/mL 或 10nmol/g 鲜重或 0.1nmol/mg prot。
2. 蛋白定量测定，建议使用 TargetMol 生产的 BCA Protein Quantification Kit (C0050)。
3. 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，不得存放于普通住宅内。
4. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

