

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

ATP 含量测定试剂盒

ATP Assay Kit

产品货号: BC00080

产品规格: 100T

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们:

✉ 邮箱 (销售) order@enkilife.cn

✉ 邮箱 (技术支持) tech@enkilife.cn

☎ 公司电话 027-87002838

🌐 网址 www.enkilife.cn



订阅微信公众号
获取更多技术
信息及前沿动态

保质期: 请见试剂盒外包装标签。

技术支持: 为了更好地给您提供服务, 联系时请告知产品外包装标签上批号。

基本信息

产品中文名称	ATP 含量测定试剂盒
产品英文名称	ATP Assay Kit
检测方法	Colorimetric
样品类型	组织、血清、血浆
检测类型	Quantitative
检测仪器及波长	酶标仪（750nm）

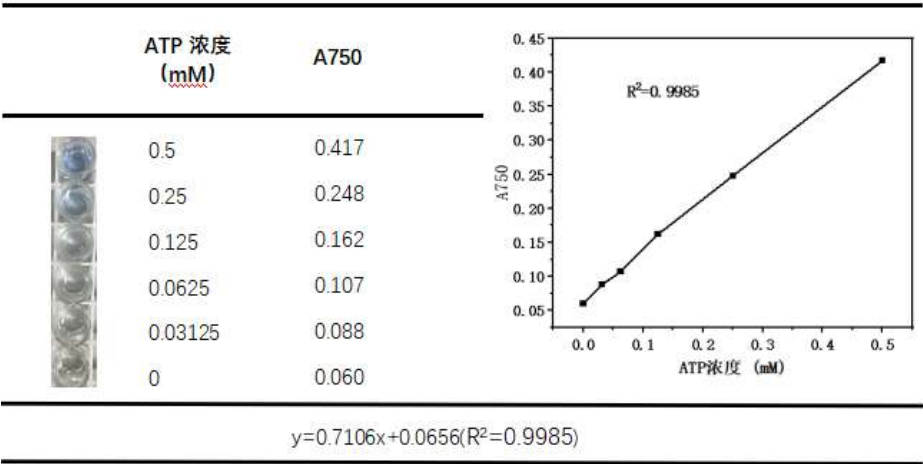
产品简介

ATP 检测试剂盒可以用于检测普通溶液、细胞或组织内的 ATP 水平。ATP 作为最重要的能量分子在细胞的各种生理、病理过程中起着重要作用。ATP 水平的改变,会影响细胞的功能。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, 而高葡萄糖刺激等对于一些细胞可以上调细胞内 ATP 水平。通常 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。

检测原理

在 PH 为 9 的环境下, 以肌酸激酶 (CK) 催化肌酸与 ATP 发生反应, 产生的磷酸肌酸用磷钼酸比色法进行检测。利用钼酸铵与磷酸盐在酸性条件下反应生成磷钼酸铵, 该化合物在还原剂的作用下被还原为蓝色的钼蓝, 其吸光度与磷酸盐的浓度成正比。

下图展示了本试剂盒测定 ATP 含量的标准曲线（仅供参考）：



产品组分

编号	产品名称	包装规格 (100T)
试剂一	5mM ATP 标准品	1.5 mL
试剂二	底物液	5 mL
试剂三	提取液	3mL
试剂四	促进剂	3mL
试剂五	缓冲液	15 mL
试剂六	显色液 A	4 mL
试剂七	显色液 B	12 mL

保存条件

产品长期运存温度-20℃; 开瓶使用后可 4℃保存,其中试剂六需避光保存, 六个月有效。

实验前准备

• 样品处理

1. 血清血浆样本：可直接测定。

组织样本：准确称取 0.1g 组织样本，并剪碎放入 2ml EP 管中（或经过多次清洗的试管），加入 0.9ml tris 盐酸溶液,在冰水浴条件下 60HZ, 90s 研磨制成组织匀浆,并沸水浴 2min,流水冷却后，4℃，10000×g 离心 10min，取上清置于冰上待测。

2. 样本的稀释：在正式检测前，需选择 2-3 个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，选择适当的稀释倍数。

注：匀浆介质和稀释液均为 PH 为 9.5 的 50mM tris 盐酸溶液。

• 试剂盒的准备工作

1. 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温。

2. 不同浓度标准品的稀释:将 5mM ATP 标准品溶液用试剂四稀释, 按照对半稀释法, 稀释成不同浓度: 0.5、0.25、0.125、0.0625、0.03125、0 (空白孔) mM。
3. 试剂二在 80℃水中溶解, 溶解后放置于 40℃热水中待用。

操作流程

1. 标准孔: 取 25μL 不同浓度的标准品, 加入到对应的 PCR 管中; 测定管: 取 25μL 待测样本, 加入到对应的 PCR 管中; 空白管: 取 25μL 试剂四, 加入到对应的 PCR 管中。
2. 向步骤(1)中的各管加入 25μL 试剂五。
3. 向步骤(1)中的各管加入 25μL 试剂二, 需快速加入, 以防结晶。
4. 向步骤(1)中的各管加入 25μL 试剂三。
5. 将各 PCR 管放入密封袋中, 随后整个袋子浸入 40℃水中, 孵育 32 分钟。
6. 以试剂六: 试剂七=20μL: 100μL 的比例混合均匀, 注意需现用现配。
7. 将孵育完成的各 PCR 管取出, 依次加入 100μL 步骤(6)混合均匀的显色液。
8. 将各 PCR 管再次放入密封袋中浸入 40℃的水中, 孵育 20 分钟。
9. 孵育完成后, 将各 PCR 管取出, 依次吸出 150μL 加入到对应的酶标孔中。
10. 酶标仪 750nm, 步进模式测定 OD 值。

注: 试剂加入酶标孔时, 应触酶标板底加入; 加样要慢, 避免产生气泡 (气泡影响测定结果)。

	标准孔	测定孔	空白孔
不同浓度的 ATP 标准品溶液	25	--	--
试剂四(μL)	--	--	25
待测样本(μL)	--	25	--
试剂五(μL)	25	25	25
试剂二(μL)	25	25	25
试剂三(μL)	25	25	25
振荡混匀, 40℃水浴加热 32min。			
试剂六: 试剂七=20μL: 100μL 均匀混合			
各 EP 管加入 100μL 混合后的显色液, 40℃水浴加热 20min			
从反应后的各 EP 管中取出 150μL 加入对应的酶标孔中, 酶标仪 750nm, 步进测定 OD 值。			

结果计算

标准品拟合曲线: $y = ax + b$

正常血清(浆)样本, ATP 含量计算公式: $\text{ATP 含量}(\text{mmol/L}) = (\Delta A_{750} - b) \div a \times f$

组织中, ATP 含量计算公式: $\text{ATP 含量}(\mu\text{mol/kg wet weight}) = (\Delta A_{750} - b) \div a \times f \div m/V$

注解:

y: 标准孔 OD 值-空白孔 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x: 吸光度对应的浓度

a: 标曲的斜率

b: 标曲的截距

ΔA_{750} : 样本 OD 值-空白 OD 值(标准浓度为 0 时的 OD 值)

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

m: 样本质量, 0.1 g

V: 组织匀浆时加入试剂一的体积, 0.9 mL

注意事项

1. 酶标仪检测波长为 750 nm。
2. 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。