天净沙系列

CAT#:7-C56-65-5

低温运输，2-8℃保存，部分-20℃保存

天净沙

三磷酸腺苷(ATP)含量测定试剂盒(荧光法)

Adenosine Triphosphate (ATP) Content Assay Kit

使用手册 V0.8

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本产品用于三磷酸腺苷含量（Adenosine Triphosphate (ATP)，CAS 56-65-5）含量。其原理是利用肌酸激酶催化肌酸和 ATP 反应生成磷酸肌酸，可在 700 nm 下用磷钼酸比色法检测磷酸肌酸含量，以此反应 ATP 含量。本产品具有如下特点：

1. 即开即用，使用便捷，用户不需要优化条件，只需准备待测样本。
2. 提供阳性对照，便于在遇到问题时分析原因。
3. 适用于检测从各种样本中提取的，或合成的 ATP。
4. 最低检测限为 10 nmol/mL 或 10 nmol/g 鲜重或 0.1 nmol/mg prot。
5. 足够 100 次 1 mL 体系检测。
6. 本产品只可用于科研。

规格及成分

本产品采用小扁盒包装

成份	编号	规格	包装
ATP 测定物干粉 1	7-C56-65-5a	100 T	10.0 mL 本色瓶
ATP 测定反应液	7-C56-65-5b	6 mL	10.0 mL 本色瓶
ATP 测定物干粉 2	7-C56-65-5c	100 T	1.5 mL 本色瓶
ATP 显色液 1	7-C56-65-5d	20 mL	30.0 mL 本色瓶
ATP 显色液 2	7-C56-65-5e	100 mL	120.0 mL 本色瓶
ATP 标准液 (0.5 μmol/mL)	7-C56-65-5sd	100 mL	120.0 mL 本色瓶
使用手册	7-C56-65-5sc	1 份	无

运输及保存

低温运输，2-8℃保存，有效期 6 个月。其中 ATP 测定物干粉 2 需-20℃保存。

自备试剂

待测样品，蒸馏水，分光光度计等。

使用方法

首次使用本试剂盒建议先选取 1-3 个差异大的样本（例如不同类型或分组）进行预实验，熟悉操作流程，根据预实验结果确定或调整样本浓度，以防造成样本或试剂不必要的浪费！。

一、试剂准备：

1. ATP 测定物 1：ATP 测定物干粉 1 临用前加入 7 mL 蒸馏水充分溶解待用；用不完的试剂分装后-20℃保存，禁止反复冻融。
2. ATP 测定物 2：ATP 测定物干粉 2 临用前加入 1.2 mL 蒸馏水充分溶解待用；用不完的试剂分装后-20℃保存，禁止反复冻融。
3. 显色剂的配制：临用前请根据拟用显色剂体积（样本数× 0.87 mL），按 ATP 显色液 1(mL)：ATP 显色液 2（mL）= 1：5 的比例配制。用多少配多少。

二、样本提取：

4. 组织中 ATP 的提取：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL 蒸馏水，冰浴匀浆，100℃加热提取 5 min，8000 ×g 4℃离心 15 min，取上清液待测。

5. 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（104 个）：蒸馏水（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 蒸馏水），超声波破碎 1 min（冰浴，强度 20%或 200 W，超声 2 s，停 1 s），8000 ×g 4℃离心 15 min；取上清液待测。

6. 血清（浆）中 ATP 的提取：取约 0.1 mL 血清（浆），加入 1 mL 蒸馏水，冰浴匀浆，100℃加热提取 5 min，8000 ×g 4℃离心 15 min，取上清液待测。

三、检测步骤：

7. 分光光度计预热 30 min 以上，调节波长到 700 nm，蒸馏水调零。

组份	空白管（仅一次）	标准管（仅一次）	测定管
样本			30 μL
标准品	30 μL	30 μL	
ATP 测定物 1		60 μL	60 μL
ATP 测定物 2		10 μL	10 μL
ATP 测定反应液	30 μL	30 μL	30 μL
蒸馏水	70 μL		
充分混匀，37℃水浴 30 min			
显色剂	870 μL	870 μL	870 μL

8. 37℃水浴 20 min 后，700 nm 下测定各管吸光值。

四、数据处理

9．血清（浆）中 ATP 含量计算：ATP 含量 (μmol/mL) = [C 标准管× (A 测定管 − A 空白管) ÷ (A 标准管 − A 空白管) × V1] ÷ (V3 × V1 ÷ V2) = 5 × (A 测定管 − A 空白管) ÷ (A 标准管 − A 空白管)。

10. 组织、细菌或细胞中 ATP 含量计算

（1）按蛋白浓度计算：ATP 含量(μmol/mg prot) = [C 标准管× (A 测定管 −A 空白管) ÷ (A 标准管 − A 空白管) × V1] ÷ (V1 ÷ Cpr) = 0.5 × (A 测定管− A 空白管) ÷ (A 标准管− A 空白管) ÷ Cpr

蛋白质含量需要另外测定。

	（2）按样本鲜重计算：ATP 含量（μmol/g 鲜重) = [C 标准管× (A 测定管 － A 空白管) ÷ (A 标准管 － A 空白管) × V1] ÷ (W × V1 ÷ V2) = 0.5 × (A 测定管 － A 空白管) ÷ (A 标准管 － A 空白管) ÷ W （3）按细菌或细胞密度计算：ATP 含量(μmol/10^4 cell) = [C 标准管 × (A 测定管 － A 空白管) ÷ (A 标准管－A 空白管) × V1] ÷ (500 × V1 ÷ V2) = 0.001 × (A 测定管－A 空白管) ÷ (A 标准管－A 空白管) 11. **C 标准管**：标准液浓度，0.5 μmol/mL；**V1**：加入反应体系中样本体积，0.03 mL；**V2**：加入提取液体积，1 mL；**V3**：加入血清（浆）体积：0.1 mL；**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。
关联产品	钙离子测定试剂盒（欧洲药典 2.3.1 A 法）