

总ATP酶活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
ATHA9-M48	总ATP酶活性检测试剂盒	48T	微量法
ATHA9-M96		96T	

一、 测定意义：

ATP 酶是催化 ATP 水解为 ADP 并释放能量的关键酶类，其活性直接反映细胞能量代谢效率，为离子转运、肌肉收缩、物质合成等所有需能生理过程提供动力。测定该酶活性可评估病理因素或应激对组织能量供应的影响，是解析能量代谢障碍相关疾病机制、临床诊断及动物组织功能健康监测的核心指标。

二、 测定原理：

ATP 酶可催化 ATP 水解生成 ADP 和无机磷 (Pi)，定磷法通过定磷试剂与反应生成的 Pi 特异性结合，形成蓝色磷钼酸络合物。该络合物在 660nm 下的吸光度值与 Pi 生成量呈线性正相关，通过计算 Pi 产量即可推算出 ATP 酶的活性高低。

三、 试剂组成：

试剂名称	试剂装量(48T)	试剂装量(96T)	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 110mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂一	液体 10mL×1 瓶	液体 20mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂二	液体 5mL×1 瓶	液体 10mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂三	液体 5mL×1 瓶	液体 10mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂四	粉剂 ×1 瓶	粉剂×2 瓶	-20℃保存
试剂四的配制： 用时每瓶粉剂加 5ml 双蒸水，现用现配。使用后剩余试剂-20℃以下可保存一周。			
试剂五	液体 5mL×1 瓶	液体 10mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂六	粉剂 ×1 瓶	粉剂×2 瓶	2~8℃保存
试剂六的配制： 用时每瓶加双蒸水 10mL 溶解，室温保存 3 个月。			
试剂七	粉剂 ×1 瓶	粉剂×2 瓶	2~8℃保存
试剂七的配制： 用时每瓶加双蒸水 10mL 溶解，溶解后避光 4℃可保存一周。			
试剂八	液体 5mL×1 瓶	液体 10mL×1 瓶	2~8℃保存

定磷剂的配制：现用现配，按双蒸水:试剂六:试剂七:试剂八=2:1:1:1 的比例配制，配好的定磷剂应为浅黄色，若无色则试剂失效，若是蓝色则为磷污染。

10μmol/mL 标准品	液体 1ml×1 支	液体 1ml×2 支	-20℃保存
------------------	------------	------------	--------

四、 操作步骤：

样本前处理

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 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆。5000 rpm, 4℃离心 10 min, 取上清置冰上待测。

2、细菌、细胞：按照细胞数量 10^4 个 : 提取液体积 (mL) 500~1000:1 的比例（建议 500 万细胞加入 1 mL 提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率 300w, 超声 3s, 间隔 7s, 总时间 3 min），5000 rpm, 4℃离心 10min, 取上清置冰上待测。

测定步骤

1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 660nm，蒸馏水调零；

2、测定前将试剂恢复至室温；

3、将 10μmol/mL 标准品用双蒸水稀释至 1μmol/mL，备用；

4、样本测定：

(1) 酶促反应（在离心管中依次加入下列试剂）：

试剂名称	测定管	对照管
试剂一 (μL)	40	100
试剂二 (μL)	40	-
试剂三 (μL)	10	-
试剂四 (μL)	10	-
样品 (μL)	100	-
混合均匀，37℃ 水浴 20min。		
试剂七 (μL)	50	50
样品 (μL)	-	100

(2) 显色反应（在 96 孔板中依次加入下列试剂）：

试剂名称	测定管	对照管	空白管	标准管
1μmol/mL 标准液(μL)	-	-	-	20
上清液(μL)	20	20	-	-
水(μL)	-	-	20	-
定磷试剂(μL)	200	200	200	200
混匀, 45°C 孵育 20min, 冷却至室温后, 空白管调零, 于波长 660nm 测定各管吸光度。ΔA 测定 = A 测定 - A 对照, ΔA 标准 = A 标准 - A 空白。空白与标曲点做 2~3 个即可。				

五、总 ATP 酶活性测定：

1、按样本蛋白浓度计算

单位定义：每分钟每毫克蛋白分解 ATP 产生 1μmol 无机磷的量为一个 ATP 酶活力单位。

计算公式：ATP (U/mg prot) = $C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{总}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}})$
 $= 0.125 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}}$

2、按样本鲜重计算

单位定义：每分钟每克组织消耗 ATP 产生 1μmol 无机磷的量为一个 ATP 酶活力单位。

计算公式：ATP (U/g) = $C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T$
 $= 0.125 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W$

3、按照细菌或细胞数量计算

单位定义：每分钟每 1 万个细菌或细胞中 ATP 酶分解 ATP 产生 1μmol 无机磷的量为一个 ATP 酶活力单位。

计算公式：ATP (U/10⁴ cell) = $C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times 500) \div T = 0.00025 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}}$

$C_{\text{标}}$: 标准管浓度, 1μmol/mL; $V_{\text{总}}$: 酶促反应总体积, 0.25mL; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.1mL; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL; T : 反应时间, 20min; C_{pr} : 样本蛋白质浓度, mg/mL; W : 样本质量, g; 500: 细菌或细胞总数, 500 万。

六、注意事项：

1、实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本

吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测；

2、试剂使用前应充分混匀, 按顺序添加避免交叉污染。

【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期：2025 年 4 月 7 日

修改日期：2025 年 4 月 7 日