

ATP含量检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1042

产品规格：100管/96样

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。

注意：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。

产品内容：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液100mL×1瓶	4℃
试剂一	液体20mL×1瓶	4℃
试剂二	粉剂×1瓶	4℃
试剂三	液体4mL×1瓶	4℃
试剂四	粉剂×2支	-20℃
试剂五	粉剂×1瓶	4℃
试剂六	粉剂×2支	-20℃
标准品	粉剂×1支	-20℃

溶液的配制：

1. 试剂二：临用前加入3.5mL蒸馏水充分溶解，可加热促进溶解；
2. 试剂四：临用前取1支加入0.2mL蒸馏水溶解，可分装后-20℃保存，避免反复冻融；
3. 试剂五：临用前加入1mL蒸馏水；
4. 试剂六：临用前取1支加入0.25mL蒸馏水备用，可分装后-20℃保存，避免反复冻融；
5. 标准品：5mg ATP。临用前加入0.826mL蒸馏水配成10 μ mol/mL的ATP标准溶液；
6. 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。

技术指标：

最低检出限：0.0026 μ mol/mL

线性范围：0.01953-3 μ mol/mL

所需的仪器和用品：

紫外分光光度计/酶标仪、水浴锅、可调式移液枪、微量石英比色皿/96孔UV板、研钵/匀浆器、蒸馏水和氯仿。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 血清（浆）中ATP的提取：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℃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℃离心3min，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）：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℃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℃离心3min，取上清，置冰上待测（不可用于蛋白质含量测定）。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

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）：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℃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℃离心3min，取上清，置冰上待测（不可用于蛋白质含量测定）。

二、测定步骤

1. 紫外分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长到340nm，蒸馏水调零。
2. 将10 μmol/mL的ATP标准溶液用蒸馏水稀释16倍即0.625 μmol/mL标准溶液备用。
3. 加样表：在微量石英比色皿或96孔UV板中加入按下表步骤加样：

试剂名称（μL）	测定管	标准管
样本	20	-
标准液	-	20
试剂一	128	128
工作液	52	52

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℃（哺乳动物）或25℃（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。用96孔板则放入37℃（哺乳动物）或25℃（其他物种）培养箱中（酶标仪若自带控温功能，则将温度调至37℃或25℃）。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。

三、ATP含量计算

1. 血清（浆）中ATP含量计算

$$\text{ATP含量}(\mu\text{mol/mL}) = \Delta A_{\text{测定}} \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标准}}) \times (V_{\text{提取}} + V_{\text{血清(浆)}}) \div V_{\text{血清(浆)}}$$

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

2. 组织、细菌或细胞中ATP含量计算

(1) 按样本质量计算

$$\text{ATP含量}(\mu\text{mol/g质量}) = \Delta A_{\text{测定}} \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标准}}) \times V_{\text{提取}} \div W$$

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

(2) 按细菌或细胞数量计算

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

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

C标准：标准液浓度，0.625μmol/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。

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. 如果吸光值大于1.5建议将样本用提取液稀释后进行测定。
4. 提取液低温条件下，可能有结晶析出，放于60℃水浴加热溶解即可，不影响使用。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com