

## ATP 含量检测试剂盒（紫外分光光度法）

产品货号：BA1041

产品规格：50管/48样

### 产品内容：

提取液：液体50mL×1瓶，4℃保存；

试剂一：液体50mL×1瓶，4℃保存；

试剂二：粉剂×1瓶，4℃保存。临用前加入7mL蒸馏水充分溶解，可加热促进溶解；

试剂三：液体8mL×1瓶，4℃保存；

试剂四：粉剂×2支，-20℃保存。临用前每支加入0.4mL蒸馏水溶解，可分装后-20℃保存，避免反复冻融；

试剂五：粉剂×1瓶，4℃保存。临用前加入3.2mL蒸馏水；

试剂六：粉剂×2支，-20℃保存。临用前加入0.5mL蒸馏水 备用，可分装后-20℃保存，避免反复冻融；

标准品：粉剂×1支，-20℃保存。5mg ATP，临用前加入0.826mL 蒸馏水配成10 μ mol/mL的ATP标准溶液。

### 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。

### 需自备的仪器和用品：

紫外分光光度计、水浴锅、可调式移液枪、1mL石英比色皿、研钵/匀浆器、蒸馏水和氯仿。

### 操作步骤：

#### 一、ATP 的提取：

- 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50 μL 的氯仿充分震荡混匀，10000g4℃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，8000g4℃离心10min，取上清至另一EP管中，加入500 μL 的氯仿充分震荡混匀，10000g4℃离心3min，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）：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），10000g4℃离心10min；取上清液至另一EP管中，加入500 μL 的氯仿充分震荡混匀，10000g4℃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、紫外分光光度计预热30min以上，调节波长到340nm，蒸馏水调零。
- 2、将10 μ mol/mL的ATP标准溶液用蒸馏水稀释16倍即0.625 μ mol/mL标准溶液备用。
- 3、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。
- 4、样本测定：



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

试剂名称 (μL)	测定管	标准管
样本	100	
标准液		100
试剂一	640	640
工作液	260	260

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°C (哺乳动物) 或25°C (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。分别计算  $\Delta A_{测定} = A2_{测定管} - A1_{测定管}$ ,  $\Delta A_{标准} = A2_{标准管} - A1_{标准管}$ 。

### 三、ATP含量计算

#### 1、血清(浆)中ATP含量计算

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

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

#### 2、组织、细菌或细胞中ATP含量计算

##### (1) 按样本鲜重计算

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

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

##### (2) 按细菌或细胞密度计算

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

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

C标准管: 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<sup>6</sup>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、当吸光值大于1.2或者ΔA测定大于1.2时, 可以将样品稀释后进行测定。若吸光值小于0.01, 则可以增加反应时间(5min或10min)来测定, 标准品需要增加同样的反应时间。



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

QQ: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com