

## 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，



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**  
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

10000g 4℃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), 10000g 4℃离心10min; 取上清液至另一EP管中, 加入500 $\mu$ L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  $\mu$  mol/mL的ATP标准溶液用蒸馏水稀释16倍即0.625  $\mu$  mol/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 ( $\mu$ L) | 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 $\Delta A$ 测定= $A_2$ 测定管- $A_1$ 测定管,  $\Delta A$ 标准= $A_2$ 标准管- $A_1$ 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, 0.625 $\mu$ mol/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,  $5 \times 10^6$ 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

**上海尚宝生物科技有限公司**  
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com