

## ATP含量测试盒（可见分光光度法）

正式测定前务必取2-3个预期差异较大的样本做预测定。

产品货号：BA2298

产品规格：50管/48样

### 测定意义：

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。

### 测定原理：

肌酸激酶催化肌酸和ATP反应生成磷酸肌酸，可在700nm下用磷钼酸比色法检测磷酸肌酸含量，以此反应ATP含量。

### 自备仪器和用品：

分光光度计、水浴锅、可调式移液枪、1mL石英比色皿、研钵和蒸馏水。

### 试剂的组成和配制：

试剂一：粉剂×1瓶，4℃保存；临用前加入3.5mL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。

试剂二：液体3mL×1瓶，4℃保存；

试剂三：粉剂×1瓶，-20℃保存；临用前加入600μL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。

试剂四：液体10mL×1瓶，4℃保存；

试剂五：液体50mL×1瓶，4℃保存；

标准液：液体10mL×1瓶，0.5μmol/mL ATP标准液，4℃保存；

### ATP 提取：

1. 组织中 ATP 的提取：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 蒸馏水，冰浴匀浆，100℃ 加热提取 5min，8000g 4℃ 离心 15min，取上清液待测。
2. 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<sup>4</sup>个）：蒸馏水（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1mL 蒸馏水），超声波破碎 1min（冰浴，强度 20%或 200W，超声 2s，停 1s），8000g 4℃ 离心 15min；取上清液待测。
3. 血清（浆）中 ATP 的提取：取约 0.1mL 血清（浆），加入 1mL 蒸馏水，冰浴匀浆，100℃ 加热提取 5min，8000g 4℃ 离心 15min，取上清液待测。

### 测定步骤：

1. 分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 700nm，蒸馏水调零。
2. 显色剂的配制：临用前请根据拟用显色剂体积（样本数×0.87mL），按试剂四(mL)：试剂五 (mL) =1：5 的比例配制。用多少配多少。



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

### 3. 样本测定:

试剂试剂 (μL)	测定管	标准管	空白管
样本	30		
标准液		30	30
试剂一	60	60	
试剂二	30	30	30
试剂三	10	10	
蒸馏水			70
充分混匀, 37°C准确水浴30min。			
显色剂	870	870	870
37°C水浴20min后, 700nm下测定各管吸光值。			

注意: 空白管和标准管通常只需要各做一个。

#### 计算:

##### 1. 血清(浆)中ATP含量计算

$$\text{ATP 含量 } (\mu\text{mol/mL}) = [\text{C 标准管} \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \times \text{V1}] \div (\text{V3} \times \text{V1} \div \text{V2}) \\ = 5 \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管})$$

##### 2. 组织、细菌或细胞中ATP含量计算

###### (1) 按蛋白浓度计算

$$\text{ATP 含量 } (\mu\text{mol/mg prot}) = [\text{C 标准管} \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \times \text{V1}] \div (\text{V1} \div \text{Cpr}) \\ = 0.5 \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \div \text{Cpr}$$

蛋白质含量需要另外测定。

###### (2) 按样本鲜重计算

$$\text{ATP 含量 } (\mu\text{mol/g 鲜重}) = [\text{C 标准管} \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \times \text{V1}] \div (\text{W} \times \text{V1} \div \text{V2}) \\ = 0.5 \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \div \text{W}$$

###### (3) 按细菌或细胞密度计算

$$\text{ATP 含量 } (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = [\text{C 标准管} \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \times \text{V1}] \div (\text{500} \times \text{V1} \div \text{V2}) \\ = 0.001 \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管})$$

C 标准管: 标准液浓度, 0.5μmol/mL; V1: 加入反应体系中样本体积, 0.03mL; V2: 加入提取液体积, 1mL; V3: 加入血清(浆)体积: 0.1mL; 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。

**注意: 最低检测限为 10nmol/mL 或 10nmol/g 鲜重或 0.1nmol/mg prot。**



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