

ATP 检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1874

保存：-20℃避光保存 6 个月

规格：48T/96T

适用样本：血清（浆）、动植物组织、细胞、细胞上清、细菌、真菌

产品简介

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。本试剂盒提供了一种简单的检测方法检测生物样本中 ATP 的含量活性水平。其原理是肌酸激酶催化肌酸和 ATP 反应生成磷酸肌酸，可在 660nm 下用磷钼酸比色法检测磷酸肌酸含量，以此反应 ATP 含量。

产品内容

| 试剂盒组分 | 规格 | | 储存条件 |
|-------|--------|--------|---------|
| | 48T | 96T | |
| 试剂一 | 粉剂×1 支 | 粉剂×1 瓶 | 4℃ 保存 |
| 试剂二 | 0.75mL | 1.5mL | 4℃ 保存 |
| 试剂三 | 30uL | 60uL | -20℃ 保存 |
| 试剂四 | 2.5mL | 5mL | 4℃ 避光保存 |
| 试剂五 | 12.5mL | 25mL | 4℃ 保存 |
| 标准品 | 粉剂×1 支 | 粉剂×1 支 | 4℃ 保存 |

自备耗材

酶标仪或可见光分光光度计（能测 660nm 处的吸光度）及水浴锅

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

制冰机、低温离心机

去离子水

匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

试剂一：临用前 48T 加入 1.25mL 去离子水，96T 加入 2.5mL 去离子水充分溶解待用；用不完的试剂分装后-20℃ 保存，避免反复冻融。

试剂二：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 保存。

试剂三：临用前用去离子水进行 1:20 稀释，整个实验过程中，冰上避光放置。现用现配，用多少配多少；用不完的试剂分装后-20℃ 保存，避免反复冻融。

试剂四：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 避光保存。

试剂五：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 保存。

显色剂的配制：临用前请根据拟用显色剂体积（样本数×0.2mL），按试剂四（mL）：试剂五（mL）=1：5 的比例配制。用多少配多少。

标准品：临用前加入 1mL 去离子水得 2 μ mol/mL ATP 标准液，4℃ 保存。

样本制备

产品说明书

血浆、血清等液体样本：取约 0.1mL 液体样本，加入 1mL 去离子水充分混匀，100℃加热提取 5min，4℃，8,000g 离心 15min，取上清，置冰上待测。

动植物组织样本：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 去离子水匀浆，100℃加热提取 5min，4℃，8,000g 离心 15min，取上清，置冰上待测。

细胞或细菌样本：收集 500 万细胞或细菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞，离心后弃上清，加入 1mL 去离子水，超声波破碎细胞或细菌 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次）；然后 4℃，8,000g 离心 15min，取上清，置冰上待测。

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。处理好的样本须当天检测。如需测定蛋白浓度，推荐使用 BCA 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

1. 酶标仪或可见光分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 660nm，可见光分光光度计去离子水调零。
2. 样本测定（在 96 孔板或微量玻璃比色皿中加入下列试剂）：

| 试剂 | 测定孔（ μL ） | 标准孔（ μL ） | 空白孔（ μL ） |
|------|----------------------|----------------------|----------------------|
| 样本 | 10 | 0 | 0 |
| 标准品 | 0 | 10 | 0 |
| 试剂一 | 20 | 20 | 20 |
| 试剂二 | 10 | 10 | 10 |
| 试剂三 | 10 | 10 | 10 |
| 去离子水 | 0 | 0 | 10 |

充分混匀，37℃准确水浴 30min

| | | | |
|-----|-----|-----|-----|
| 显色剂 | 200 | 200 | 200 |
|-----|-----|-----|-----|

混匀，37℃水浴 20min 后，在 660nm 处，记录各管吸光值 A，分别记为 $A_{\text{测定}}$ 、 $A_{\text{标准}}$ 、 $A_{\text{空白}}$ 。计算 $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ ， $\Delta A_{\text{标}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。

注意：空白孔和标准孔只需测定一次。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 $\Delta A_{\text{测}}$ 小于 0.001 可适当加大样本量；如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 大于 1.0 或测定孔有明显浑浊，样本可用去离子水进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。

结果计算

ATP 含量计算：

1. 按样本鲜重计算

$$\text{ATP 含量} (\mu\text{mol/g 鲜重}) = C_{\text{标}} \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提取}}) = 2 \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \div W$$

2. 按液体体积计算

$$\text{ATP 含量} (\mu\text{mol/mL}) = C_{\text{标}} \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{液}} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提取}}) = 20 \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}})$$

3. 按细菌或细胞数量计算

$$\text{ATP 含量} (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = C_{\text{标}} \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \times V_{\text{样}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提取}}) = 0.004 \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}})$$

4. 按蛋白浓度计算

$$\text{ATP 含量} (\mu\text{mol/mg prot}) = C_{\text{标}} \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div C_{\text{pr}}) = 2 \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \div C_{\text{pr}}$$

$C_{\text{标}}$ ：标准液浓度，2 $\mu\text{mol/mL}$ ； $V_{\text{样}}$ ：加入反应体系中样本体积，0.01mL； $V_{\text{提取}}$ ：加入提取液体积，1mL； $V_{\text{液}}$ ：提取时加入液体样本体积：0.1mL； C_{pr} ：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。

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。

产品说明书

4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

PMK1098 Na+k+ ——ATP 酶检测试剂盒（微量法）
PMK1099 Ca++Mg++ ——ATP 酶检测试剂盒（微量法）

更多产品详情了解，请关注公众号：

