

ATP 检测试剂盒（分光法）

货号：PMK1874BKS
规格：25 管/12S 50 管/24S
检测方法：比色法
储存条件：-20℃避光保存 6 个月

💡 建议正式实验前，选取 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验，如果样本吸光值不在检测范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

一、产品简介

研究背景：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。

检测原理：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。

📊 **检测意义：**能量代谢状态评价、评估细胞活力/毒理、能量代谢相关疾病机制研究

🔧 **适用样本：**动植物组织、细胞、细菌、真菌、血清（浆）、细胞上清等液体样本

二、产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	25 管	50 管	
试剂一	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	4℃保存
试剂二	3.75mL	7.5mL	4℃保存
试剂三	150uL	300uL	-20℃保存
试剂四	12.5mL	25mL	-20℃避光保存
试剂五	62.5mL	125mL	4℃保存
标准品	粉剂×1 支	粉剂×1 支	4℃保存

三、需自备的仪器和用品

📏 分光光度计（660nm 处的吸光度）及恒温箱、比色皿、可调节式移液枪及枪头、低温离心机、制冰机、去离子水、匀浆器（如果是组织样本）

四、试剂准备

试剂一：临用前每瓶加入 6.25mL 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；用不完的试剂分装后-20℃避光保存，避免反复冻融。

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 2umol/mL ATP 标准液，4℃可保存一周，分装-20℃保存 1 个月或-80℃保存 6 个月。使用前，取 50μL 2umol/mL ATP 标准液，加 150μL 去离子水得 0.5umol/mL ATP 标准工作液。

五、样本制备

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）；100℃加热提取 5min，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。

六、实验步骤

1. 分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 660nm，去离子水调零。

2. 样本测定（在 EP 管中加入下列试剂）：

试剂	测定 (mL)	对照 (mL)	标准 (mL)	空白 (mL)
样本	0.1	0.1	0	0
标准工作液	0	0	0.1	0
试剂一	0.2	0	0.2	0
试剂二	0.1	0.1	0.1	0.1
试剂三	0.2	0	0.2	0
去离子水	0	0.4	0	0.5

充分混匀，37℃准确反应 30min

显色剂	2	2	2	2
-----	---	---	---	---

混匀，37℃孵育 20min 后，取 2mL 于比色皿中，在 660nm 处测定各管吸光值 A。计算 $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。（空白孔和标准孔只需测定一次）



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 $\Delta A_{\text{测}}$ 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。该反应体系是按照常规的容量 3mL 左右的比色皿设计的，如果比色皿最适合的加样体积不是 2mL 左右，可以根据实际需要的体积按比例调整。

七、结果计算

ATP 含量计算：

1. 按样本鲜重计算

ATP 含量($\mu\text{mol/g}$ 鲜重) = $C_{\text{标}} \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提取}}) = 0.5 \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \div W$

2.按液体体积计算

ATP 含量($\mu\text{mol/mL}$) = $C_{\text{标}} \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{液}} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提取}}) = 5 \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}})$

3.按细菌或细胞数量计算

ATP 含量($\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}$) = $C_{\text{标}} \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \times V_{\text{样}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提取}}) = 0.001 \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}})$

$C_{\text{标}}$: 标准液浓度, $0.5 \mu\text{mol/mL}$; $V_{\text{样}}$: 加入反应体系中样本体积, 0.1 mL ; $V_{\text{提取}}$: 加入提取液体积, 1 mL ; $V_{\text{液}}$: 提取时加入液体样本体积: 0.1 mL ; W : 样本质量, g ; 500 : 细胞或细菌总数, 500 万 。

附录：常见问题与解决方案 (FAQ)

问题	解决措施
计算时如果选择合适的计算公式？	动物组织及细胞微生物等，可以用质量或者细胞数量计算，也可以建议测蛋白浓度
	植物可建议用质量计算，也可以建议测蛋白
	血液或是其他液态样品，可建议用体积计算
	如客户要购买蛋白含量测定试剂盒，除了说明书强调用考马斯亮蓝法的，通常建议 BCA 法。动植物组织因为蛋白含量高，在 10 mg/mL 左右，如果用考马斯亮蓝法测定蛋白浓度的话通常需要用 PBS 缓冲液等稀释液进行稀释。
测定时如何进行调零？	除说明书中提示用对照管或某种试剂调零外，都用纯水调零。
试剂盒中样本提取时需要 0.1 g 组织，我的样品量不够怎么办？	通常可以按比例缩小，如说明书中是约 0.1 g 组织加 1 mL 提取液，可以等比例缩小，如 0.05 g 组织加 0.5 mL 提取液提取。后续操作不变。
	对于数量少的样品，一方面可以减少提取液体积，另一方面还可以延长反应时

🔍 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。
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：

PMK1098BKM Na⁺K⁺ ——ATP 酶检测试剂盒（微量法）

PMK1099BKM Ca⁺⁺Mg⁺⁺ ——ATP 酶检测试剂盒（微量法）

PMK1104BKM 线粒体呼吸链复合体 V/ATP 合酶/三磷酸腺苷合酶检测试剂

更多产品详情了解，请关注公众号：

