



ATP含量试剂盒(磷钼酸比色法) 微板法

产品简介:

三磷酸腺苷(ATP)是生物体内能量转换最基本的载体,是生物体内最直接的
能量来源,测定ATP含量并且计算能荷,能够反映能量代谢状态。

肌酸激酶催化三磷酸腺苷(ATP)和肌酸生成磷酸肌酸,用磷钼酸比色法进行
检测,经波长扫描产物在700nm处有最大吸收峰,进而计算得到ATP的含量。

试剂盒的组成和配制:

试剂名称	R32149-48T	R32149-96T	保存要求	备注
提取液	液体60mL×1瓶	液体100mL×1瓶	4℃保存	
试剂一	粉剂mg×1支	粉剂mg×2支	-20℃保存	用前甩几下或离心使粉体落入底部,再加入 1.1mL 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6mL×1瓶	液体10mL×1瓶	4℃保存	
试剂三	粉剂μg×1支	粉剂μg×2支	-20℃保存	用前甩几下或离心使粉体落入底部,再加入 0.55mL 蒸馏水溶解待用;用不完的试剂分装后-20℃保存, 禁止反复冻融。
试剂四	粉剂mg×1瓶	粉剂mg×2瓶	4℃保存	用前甩几下或离心使粉体落入底部,再加入 2.86mL 水混匀,再加入1.14mL浓硫酸(加浓硫酸时务必缓慢 加入水中,注意防护)。
试剂五	液体20mL×1瓶	液体40mL×1瓶	4℃保存	
标准品	粉体mg×1支	粉体mg×1支	-20℃保存	用前准确称取2mg粉体即ATP至一新EP管中,再加 1.7mL蒸馏水溶解即2μmol/mL,再用水稀释一倍成 1μmol/mL标准品,待用 (-20℃保存,一周内用完)

【注】:全程操作需无磷环境;试剂配置最好用新的枪头和玻璃移液器等,也
可以用一次性塑料器皿,避免磷污染。

所需的仪器和用品:

酶标仪、96孔板、水浴锅、可调式移液枪、研钵和蒸馏水。



ATP 含量检测:

建议正式实验前选取2个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备:

①组织样本:

称取约0.1g 组织加入研钵中, 加入1mL 提取液, 进行匀浆, 转至EP 管中, 于95℃水浴中煮5min, 取出冷却至室温后于12000rpm, 室温离心10min, 上清液待测。

【注】:也可以按照组织质量 (g): 提取液体积(mL)为1:5~10的比例提取。

②细菌/真菌样本:

先收集细菌或细胞到离心管内, 离心弃上清; 取500万细菌或细胞加入1mL 提取液, 超声波破碎细菌或细胞(冰浴, 功率200W, 超声3s, 间隔10s, 重复30次), 于95℃ 水浴中煮5min, 取出冷却至室温后于12000rpm, 室温离心10min, 上清液待测。

【注】:也可按照细菌或细胞数量(10^4 个):提取液体积(mL) 为500~1000:1的比例进行提取。

③液体样本:

澄清样本直接检测, 若浑浊则12000rpm, 4℃ 离心5min 后取上清液测定。

【注】:也可以按照血清(浆)体积 (mL): 提取液体积(mL)为1:5~10的比例提取。

2、上机检测:

①酶标仪预热30 min 以上, 调节波长到700nm。

②反应液配制: 按照试剂四: 试剂五=1:5的比例混匀。用多少配多少的混合液

③在EP管中依次加入:

试剂名称(μL)	测定管	对照管	标准管	空白管(仅做一次)
样本	20	20		
标准液			20	
试剂一	20		20	
试剂二	50	50	50	50



试剂三	10		10	
蒸馏水		30		50
充分混匀, 37℃准确水浴30min				
反应液	180	180	180	180
混匀, 37℃水浴20min,液体全部转移至96孔板中, 在700nm下读取各管吸光值 A(每个测定管需设一个对照管)。				

结果计算:

1、按样本鲜重计算:

ATP 含量($\mu\text{mol/g}$ 鲜重)

$$=[C\text{标准} \times V\text{标} \times (A\text{测定} - A\text{对照}) \div (A\text{标准} - A\text{空白})] \div (W \times V1 \div V)$$

$$=(A\text{测定} - A\text{对照}) \div (A\text{标准} - A\text{空白}) \div W$$

2、按细菌/细胞密度计算:

ATP 含量($\text{nmol}/10^4\text{cell}$)

$$=[C\text{标准} \times V\text{标} \times (A\text{测定} - A\text{对照}) \div (A\text{标准} - A\text{空白})] \div (500 \times V1 \div V) \times 10^3$$

$$=2 \times (A\text{测定} - A\text{对照}) \div (A\text{标准} - A\text{空白})$$

3、液体中ATP 含量计算:

$$\text{ATP含量}(\mu\text{mol/mL}) = [C\text{标准} \times V\text{标} \times (A\text{测定} - A\text{对照}) \div (A\text{标准} - A\text{空白})] \div V1$$

$$=(A\text{测定} - A\text{对照}) \div (A\text{标准} - A\text{空白})$$

C 标准---标准液浓度, $1\mu\text{mol/mL}$;

V---加入提取液体积, 1mL ;

V1---加入反应体系中样本体积, 0.02mL ;

V标--- 标准品加样体积, 0.02mL ;

W---样本质量, g;

500---细胞或细菌总数, 万。