



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

ATP 含量测定试剂盒(酶法) 微板法

产品编号	产品名称	规格
R32147-96T	ATP 含量测定试剂盒(酶法) 微板法	96T

产品简介:

ATP, 又称为三磷酸腺苷, 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。通常细胞在凋亡、坏死或处于一些毒性状态下, ATP 水平会下降; 在高葡萄糖等刺激可上调某些细胞内的 ATP 水平。而 ATP 水平的下降表明线粒体的功能受损或下降, 在细胞凋亡时 ATP 水平的下降通常和线粒体的膜电位下降同时发生。

本试剂盒通过 ATP 在己糖激酶和 6-磷酸葡萄糖脱氢酶的混合作用下, 使 ATP 水解并生产 NADPH, 通过检测 340nm 下 NADPH 的增加量, 进而计算得到 ATP 的含量。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 100mL×1 瓶	2-8℃ 保存	
试剂一	粉末 × 1 支	2-8℃ 保存	临用前甩几下或离心, 使粉剂落入底部, 再加 1.1mL 蒸馏水备用。
试剂二	粉末 × 1 支	-20℃ 保存	临用前甩几下或离心, 使粉剂落入底部, 再加 1.1mL 蒸馏水备用。
试剂三	液体 16mL×1 瓶	2-8℃ 保存	
试剂四	粉末 × 1 支	2-8℃ 保存	临用前甩几下或离心, 使粉剂落入底部, 再加 1.1mL 蒸馏水备用。
标准品	粉末 × 1 支	-20℃ 保存	仅用来鉴定试剂盒中试剂是否正常(不参与结果计算)。配制方法:用前标准管(ATP)甩几下使粉剂落入底部, 再加 0.5mL 蒸馏水混匀溶解即浓度为 20 μmol/mL (最好一周内用完), 再稀释 10 倍成 2 μmol/mL 的 ATP 后备用, 按照加样表中的测定管操作 (样本更换为备用浓度的标准品)



使用方法:

建议正式实验前, 选取 2 个样本做预测定, 了解实验样品情况, 熟悉流程, 避免样本和试剂浪费!

一、样本准备:

1. 组织样本准备:

(a) 称取约 0.1g 组织加入研钵中, 加入 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆;

(b) 10000-12000g, 4℃ 离心 10min, 取上清液, 置冰上待测。

【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/细胞样本准备:

(a) 收集细菌或细胞到离心管内, 离心弃上清;

(b) 取 5×10^6 个细菌或细胞加入 1mL 提取液, 冰浴超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 强度 20% 或 200W, 超声 3S, 间隔 10S, 重复 30 次);

(c) 10000-12000g, 4℃ 离心 10min, 取上清液, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照每 $5 \sim 10 \times 10^6$ 个细菌/细胞数量加入 1mL 提取液进行提取

3. 液体样本准备:

澄清的液体直接检测; 若浑浊则离心后取上清检测。

二、样品测定:

1. 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 340nm。

2. 在 96 孔板中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	空白管(做一次)
样本	10	-
试剂一	10	10
试剂二	10	10
试剂三	160	170
混匀, 室温 (25℃) 下, 5min 后于 340nm 处读取各管的 A1 值		
试剂四	10	10
混匀, 室温 (25℃) 下, 反应 30min 于 340nm 处读取各管的 A2 值。		



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

【注】若 ΔA 的差值在零附近，可增加样本量（如 40 μ L，则试剂三相应减少）。改变后的样本加样量 V1 需代入公式重新计算。

三、含量计算

1、按样本质量计算：

$$\text{ATP 含量}(\mu\text{mol/g 鲜重})=[\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_2 \times 10^6] \div (W \times V_1 \div V) = 6.35 \times \Delta A \div W$$

2、按细菌/细胞密度计算：

$$\text{ATP 含量}(\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell})=[\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_2 \times 10^6] \div (500 \times V_1 \div V) = 0.013 \times \Delta A$$

3、液体中 ATP 含量计算：

$$\text{ATP 含量}(\mu\text{mol/mL})=[\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_2 \times 10^6] \div V_1 = 6.35 \times \Delta A$$

$$\Delta A = (A_2 - A_1) \text{ 测定} - (A_2 - A_1) \text{ 空白}$$

d---光径距离，0.5cm

ϵ ---NADPH 的摩尔吸光系数为 $6.3 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$

V---提取液体积，1mL

V1---样本体积，10 μ L=0.01mL

V2---反应总体积，200 μ L= 2×10^{-4} L

ATP 分子量---551.14

W--样本质量，g

注意事项：

1、 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。

2、 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

保存条件：

-20℃保存三个月。