

## ATP 检测试剂盒

货号：RBC0051

规格：92S

检测波长：660nm

检测时间：50min

适用样本：血清（浆）、动植物组织、细胞、细胞上清、细菌、真菌

### 使用前请仔细阅读说明书，预实验后再进行批量试验

如有任何问题，可以通过以下方式联系我们：

销售部电话：027-65316809

技术部电话：153-42250750

官方网站：[www.reedbio.cn](http://www.reedbio.cn)

### 一、实验原理：

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。

## 二、试剂盒组分与保存（试剂盒保质期 6 个月）

| 试剂名称 | 规格           | 保存条件     |
|------|--------------|----------|
| 试剂一  | 粉剂×1 瓶       | 4℃保存     |
| 试剂二  | 1.5mL        | 4℃保存     |
| 试剂三  | 60μL         | -20℃保存   |
| 试剂四  | 5mL          | -20℃避光保存 |
| 试剂五  | 25mL         | 4℃保存     |
| 标准品  | 粉剂×1 支       | 4℃保存     |
| 酶标板  | 96T:8 孔×12 条 | 常温保存     |

## 三、需自备的仪器和用品：

酶标仪(660nm)、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）

### 样本制备参考附录

## 四、操作步骤：

### 1. 预实验注意事项：

**空白孔和标准孔只需测定一次，正式实验可不测。**实验之前建议选择 2 个预期差异大的样本做预实验（预实验总共 4 个孔）。如果 $\Delta A$  测小于 0.001 可适当加大样本量；如果 $\Delta A$  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。

### 2. 试剂准备：

试剂一：临用前加入 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；-20℃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。现用现配。

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

### 3. 实验步骤及结果计算：

1) 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 **660nm**。

2) 操作表：

| 试剂名称（μL）                                                                                                                                                                                                        | 测定孔 | 标准孔 | 空白孔 |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|
| 样本                                                                                                                                                                                                              | 10  | 0   | 0   |
| 标准品                                                                                                                                                                                                             | 0   | 10  | 0   |
| 去离子水                                                                                                                                                                                                            | 0   | 0   | 10  |
| 每孔分别依次加入 <b>试剂一 20μL、试剂二 10μL、试剂三 10μL</b> 后充分混匀，<br><b>37℃</b> 孵育 <b>30min</b>                                                                                                                                 |     |     |     |
| 孵育完成后每孔加入 200μL 显色剂，20min 后用酶标仪测定 660nm 处吸光值 A，分别即为 A <sub>测定</sub> 、A <sub>标准</sub> 、A <sub>空白</sub> 。<br>ΔA <sub>测</sub> =A <sub>测定</sub> -A <sub>空白</sub> 、ΔA <sub>标</sub> =A <sub>标准</sub> -A <sub>空白</sub> |     |     |     |

### 3) 结果计算

#### 1.按样本鲜重计算

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

#### 2.按液体体积计算

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

#### 3.按细菌或细胞数量计算

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

#### 4.按蛋白浓度计算

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

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。

## 附录（样本处理）：

### 1. 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°C**加热提取 5min，4°C，8,000g 离心 15min，取上清，置冰上待测。

### 2. 动植物组织样本：

称取约 0.1g 样本，加入 1mL 去离子水匀浆，**100°C**加热提取 5min，4°C，8,000g 离心 15min，取上清，置冰上待测。

### 3. 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°C，8,000g 离心 15min，取上清，置冰上待测。

## 技术资源

微信扫描左下二维码，获得更详细的实验指南和常规问题分析如有任何技术问题，请与我司联系(建议及时对显色结果拍照，保留实验数据以及未使用的试剂)。

