

ATP 含量测定试剂盒说明书

(分光法 48 样)

一、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。

三磷酸腺苷（ATP）在己糖激酶和 6-磷酸葡萄糖脱氢酶混合酶的作用下，使 ATP 水解并伴随着 NADPH 的生成，通过检测 340nm 下 NADPH 的增加量，进而计算得到 ATP 的含量。

二、试剂盒的组成和配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	60mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉剂×1 支	4℃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	粉剂×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	33mL 液体×1 瓶	4℃保存	
试剂四	粉剂×1 支	4℃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。

三、所需的仪器和用品：

紫外分光光度计、1mL 石英比色皿（光径 1cm）、恒温培养箱、可调式移液枪、研钵和蒸馏水。

四、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，进行冰浴匀浆，12000rpm，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/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；冰浴超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 20%或 200W，超声 3S，间隔 10S，重复 30 次）；12000rpm，4℃离心 10min，取上清液，置冰上待测。

【注】：也可按照细菌或细胞数量（10⁴个）：提取液体积（mL）为 500~1000：1 的比例进行提取

③ 液体样本：澄清的液体直接检测；若浑浊则离心后取上清检测。

2、上机检测：

① 紫外分光光度计预热 30 min 以上，调节波长到 340nm，蒸馏水调零。

② 在 1mL 石英比色皿（光径 1cm）中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管
样本	40
试剂一	20
试剂二	20
试剂三	600

混匀，室温（25℃）下，5min后于340nm处读取A1值。	
试剂四	20
混匀，室温（25℃）下，反应15min于340nm处读取A2值， $\Delta A = A2 - A1$ 。	

【注】若 ΔA 差值在零附近，可增加样本量 $V1$ （如 100 μ L，则试剂三相应减少）。

则改变后的 $V1$ 需代入公式重新计算。

五、结果计算：

1、按样本鲜重计算：

$$\text{ATP 含量}(\mu\text{mol/g 鲜重}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^6] \div (W \times V1 \div V) = 2.78 \times \Delta A \div W$$

2、按细菌/细胞密度计算：

$$\text{ATP 含量}(\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^6] \div (500 \times V1 \div V) = 0.006 \times \Delta A$$

3、液体中 ATP 含量计算：

$$\text{ATP 含量}(\mu\text{mol/mL}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^6] \div V1 = 2.78 \times \Delta A$$

ϵ ---NADPH的摩尔吸光系数为 $6.3 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$ ； d ---光径距离，1cm；

V ---提取液体积，1mL；

$V1$ ---样本体积，40 μ L=0.04mL；

$V2$ ---反应总体积，700 μ L= 7×10^{-4} L；

ATP分子量---551.14；

W ---样本质量，g。