

CheKine™ ATP 含量检测试剂盒（微量法）

货号: KTB1016

规格: 48 T/48 S

96 T/96 S

批号: 见产品标签

	检测范围: 0.02-8 μmol/mL		灵敏度: 0.01 μmol/mL
	适用样本: 动植物组织、细胞、细菌、血清（浆）		
	保质期: -20℃, 避光保存 6 个月		

01 背景与原理

ATP 广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中，是细胞内的生物能量通货，在细胞的各种生理和病理过程中发挥重要作用。能荷是描述细胞能量代谢状态的主要参数。通过测定机体 ATP 含量并计算能荷，对机体能量代谢状态分析具有重要意义。

本试剂盒检测原理是肌酸激酶催化肌酸和 ATP 反应生成磷酸肌酸。在酸性条件下，磷酸肌酸分解为肌酸和无机磷。在还原剂的作用下，无机磷与钼酸铵反应产生深蓝色钼蓝复合物，测定其在 700 nm 处的吸光度值即可计算样本中 ATP 的含量。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Reagent I	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃
Reagent II	2.5 mL	5 mL	4℃
Reagent III	18 μL	36 μL	-20℃, 避光保存
Reagent IV	5 mL	10 mL	4℃, 避光保存
Reagent V	25 mL	50 mL	4℃
Standard	Powder×1 vial	Powder×1 vial	-20℃, 避光保存

*请在实验前检查各组分的量。

*各组分在规格基础上额外提供 10% 的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 700 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	PBS/去离子水	样本清洗用/试剂配制及样本提取用
其他	匀浆器（组织样本）、低温离心机、水浴锅、 可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有 助于提高实验效率

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。
- 对于组织样本及细胞样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Working Reagent I	临用前配制；48 T 加入 1.2 mL 去离子水，96 T 加入 2.4 mL 去离子水，加热煮沸至完全溶解	分装后-20℃保存 4 周，禁止反复冻融
Reagent II	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存；Reagent II 有刺激性气味，建议在通风橱进行实验
Working Reagent III	临用前配制；48 T 加入 0.6 mL 去离子水，96 T 加入 1.2 mL 去离子水溶解	实验过程中避光放置；分装后-20℃避光保存 4 周，禁止反复冻融
Reagent IV	即用型；使用前平衡到室温	实验过程中避光放置；4℃避光保存；Reagent IV 有毒且有刺激性气味，建议在通风橱进行实验
Reagent V	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Standard 储备液	临用前配制；加入 10 mL 去离子水溶解	浓度为 2 μmol/mL；分装后-20℃避光保存 4 周，避免反复冻融

*实验试剂及耗材不能有任何磷污染，建议使用一次性塑料器皿，避免干扰检测结果。

05-2 样本制备

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。

- **动植物组织**：称取 0.1 g 组织加入 1 mL 去离子水将样本进行冰浴匀浆，100℃加热提取 5 min 后，4℃，8000 g 离心 15 min，取上清置于冰上待测。
- **细胞（菌）**：收集 5×10^6 个细胞或细菌，用预冷的 PBS 清洗细胞（菌），800 g 离心 2 min，弃上清（注意尽量去除管口及管壁残留液滴）。加入 1 mL 去离子水进行冰浴超声破碎。超声波破碎 1 min（功率 20% 或 200 W，超声 2 s，间隔 1 s，重复 20 次），100℃加热提取 5 min 后，4℃，8000 g 离心 15 min，取上清置于冰上待测。
- **血清（浆）**：取 0.1 mL 血清（浆），加入 1 mL 去离子水，充分混匀，100℃加热提取 5 min 后，4℃，8000 g 离心 15 min，取上清置于冰上待测。

05-3 实验步骤

1. **酶标仪准备**：预热 30 min 以上，调节波长到 700 nm。
2. **Working Reagent 的配制**：临用前配制；按 Reagent IV：Reagent V=1:5 的比例配制，用多少配多少，现用现配。
3. **检测体系配制**：每个样本需设置一个对照孔，空白孔和标准孔只需做 1 次。在 96 孔板中按照如下方式操作

试剂	测定孔 (μL)	对照孔 (μL)	空白孔 (μL)	标准孔 (μL)
样本	10	10	0	0
Standard	0	0	10	10
Working Reagent I	20	0	0	20
Reagent II	10	10	10	10
Working Reagent III	10	0	0	10
去离子水	0	30	30	0
充分混匀，37℃孵育 30 min				
Working Reagent	200	200	200	200

4. **吸光度检测**：充分混匀，37℃孵育 20 min。在 700 nm 处读取吸光度值，分别标记为 $A_{\text{测定}}$ 、 $A_{\text{对照}}$ 、 $A_{\text{空白}}$ 和 $A_{\text{标准}}$ 。（注意：该体系的最终反应颜色为蓝色或黄绿色属正常现象，不影响 OD 值的检测结果。）

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网[\[https://www.abbkine.cn\]](https://www.abbkine.cn) > 进入“技术中心”> 查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算 $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ ， $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。

2. 样本 ATP 含量计算

● 按样本质量计算

$$\text{ATP } (\mu\text{mol/g}) = [C_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{样}}] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提}}) \times n = 2 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \times n$$

● 按细胞或细菌数量计算：

$$\text{ATP } (\mu\text{mol}/10^6) = [C_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{样}}] \div (5 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提}}) \times n = 0.4 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times n$$

● 按液体体积计算

$$\text{ATP } (\mu\text{mol/mL}) = [C_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{样}}] \div [V_{\text{液}} \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{液}} + V_{\text{提}})] \times n = 20 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times n$$

● 按蛋白浓度数量计算

$$\text{ATP } (\mu\text{mol/mg prot}) = [C_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{样}}] \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \times n = 2 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div \text{Cpr} \times n$$

$C_{\text{标准}}$ ：标准品的浓度，2 $\mu\text{mol/mL}$ ； $V_{\text{样}}$ ：加入反应体系中样本体积，0.01 mL； $V_{\text{提}}$ ：加入去离子水的体积，1 mL； $V_{\text{液}}$ ：加入血清（浆）体积：0.1 mL； Cpr ：样本蛋白质浓度，mg/mL； W ：样本质量，g；5：细胞或细菌总数， 5×10^6 ，以 10^6 为单位； n ：样本稀释倍数。

07 结果展示

示例-1：取 0.1 g 小鼠肝脏，按照测定步骤操作，用 96 孔板进行检测。测得 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} = 0.535 - 0.179 = 0.356$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}} = 0.274 - 0.071 = 0.203$ 。按样本质量计算得：ATP ($\mu\text{mol/g}$) = $2 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \times n = 35.07 \mu\text{mol/g}$ 。

示例-2：取 0.1 mL 牛血清，按照测定步骤操作，用 96 孔板进行检测。测得 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} = 0.179 - 0.130 = 0.049$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}} = 0.274 - 0.071 = 0.203$ 。按液体体积计算得：ATP 含量($\mu\text{mol/mL}$) = $20 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times n = 4.83 \mu\text{mol/mL}$ 。

08 FAQ

● 检测得到的样本 $\Delta A_{\text{测定}}$ 过高或者过低怎么办？

如果样本 $\Delta A_{\text{测定}} > 1.0$ ，可用去离子水进一步稀释样本，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。如果样本 $\Delta A_{\text{测定}} < 0.001$ ，可适当增加样本量。

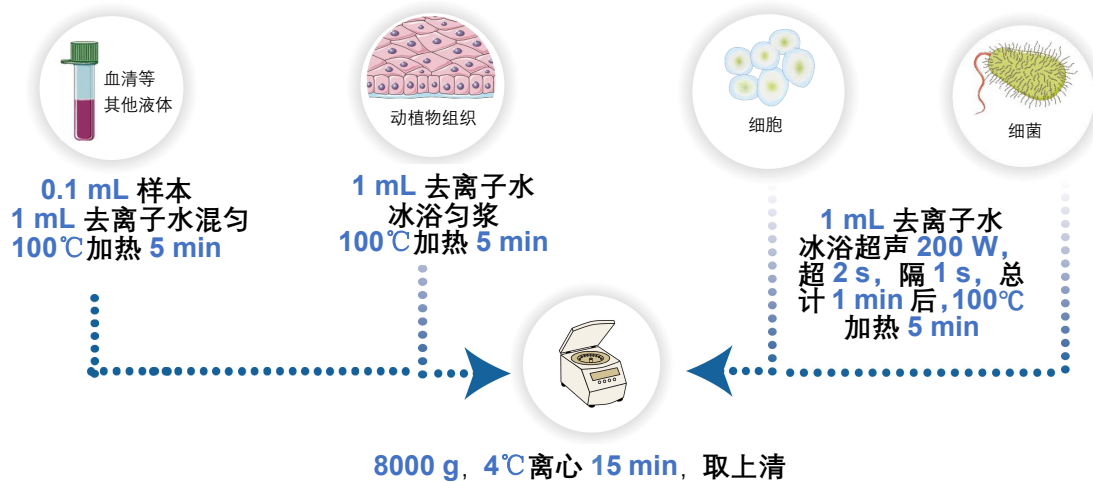
09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB1320	CheKine™ 植物可溶性糖含量检测试剂盒（微量法）
KTB1330	CheKine™ 血糖含量检测试剂盒（微量法）
KTB1340	CheKine™ 糖原含量检测试剂盒（微量法）

CheKine™ ATP 含量检测流程示意图

(Abbkine 货号: KTB1016)

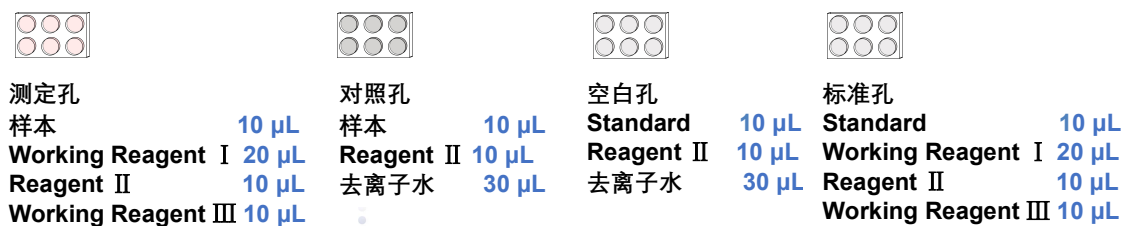
样本处理



Working Reagent:

按 Reagent IV: Reagent V = 1:5 的
比例配制, 用多少配多少, 现用现配

体系配置



37℃ 孵育 30 min 后, 每孔加入 200 μ L
Working Reagent, 37℃ 孵育 20 min

数据检测

测定 700 nm 吸光度
结果计算