

Ca⁺⁺ Mg⁺⁺-ATP 酶检测试剂盒（可见分光光度法）

产品货号：BA1039

产品规格：50管/24样

产品内容：

试剂一：液体30mL×1瓶，4℃保存。

试剂二：液体4mL×1瓶，4℃保存。

试剂三：粉剂×2支，-20℃保存；临用前加入1mL蒸馏水充分混匀待用，现用现配。用不完的试剂-20℃可保存一周。

试剂四：液体2mL×1瓶，4℃保存。

试剂五：粉剂×1瓶，4℃保存。用时加入3mL双蒸水，4℃保存。

试剂六：粉剂×1瓶，4℃保存。用时加入15mL双蒸水，溶解后4℃保存一周。

试剂七：粉剂×1瓶，4℃保存。用时加入15mL双蒸水，溶解后4℃保存一周。

试剂八：液体15mL×1瓶，室温保存。

标准品：10mmol/L标准磷贮备液 1mL×1支，4℃保存。

0.5 μ mol/mL标准磷应用液配制：将标准品20倍稀释，即取0.1mL标准品加1.9mL蒸馏水充分混匀。

定磷剂的配制：按 H₂O: 试剂六:试剂七:试剂八=2:1:1:1的比例配制，配好的定磷剂应为浅黄色。若无色则试剂失效，若是蓝色则为磷污染，定磷剂现用现配。

注意：配试剂最好用新的烧杯、玻棒和玻璃移液器，也可以用一次性塑料器皿，避免磷污染。

产品说明：

Ca⁺⁺ Mg⁺⁺-ATP酶广泛分布于植物、动物、微生物和细胞中，可催化ATP水解生成ADP和无机磷。

根据Ca⁺⁺ Mg⁺⁺-ATP酶分解ATP生成ADP及无机磷，通过测定无机磷的量来确定ATP酶活性高低。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、1mL玻璃比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样品酶液的制备：

1、细菌、细胞或组织样品的制备：

细菌或培养细胞：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照每500万细菌或细胞加入1mL试剂一，超声波破碎细菌或细胞（功率20%，超声3s，间隔10s，重复30次）；8000g 4℃离心10min，取上清，置冰上待测。

组织：称取约0.1g组织，加入1mL试剂一进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心10min，取上清，置冰上待测。

2、血清（浆）样品：直接检测。

二、测定步骤：

1、分光光度计预热30min以上，调节波长至660nm，蒸馏水调零。

2、酶促反应（在EP管中加入下列试剂）

	对照管	测定管
试剂一（μL）	130	90



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

试剂二 (μL)	80	80
试剂三 (μL)	40	40
试剂四 (μL)		40
样品 (μL)		200
混匀, 37℃ (哺乳动物) 或25℃ (其他物种) 准确水浴10min		
试剂五 (μL)	50	50
样品 (μL)	200	
混匀, 4000g, 常温离心10min, 取上清液		

3、定磷 (1.5mLEP 管中依次加入下列试剂)

	空白管	标准管	对照管	测定管
0.5 μmol/ml 标准磷应用液 (μL)		100		
上清液 (μL)			100	100
蒸馏水 (μL)	100			
定磷试剂 (μL)	1000	1000	1000	1000
混匀, 40℃水浴 10min, 冷却至室温, 在 660nm 处比色。				

三、计算

1、血清 (浆) Ca⁺⁺ Mg⁺⁺-ATPase活力的计算:

定义: 规定每小时每毫升血清 (浆) 中Ca⁺⁺ Mg⁺⁺-ATP酶分解ATP产生1μmol无机磷的量为一个酶活力单位。

$$\text{Ca}^{++} \text{Mg}^{++}\text{-ATP酶活力 (U/mL)} = \frac{C \text{标准管} \times (A \text{测定管} - A \text{对照管})}{(A \text{标准管} - A \text{空白管}) \times V \text{总} \div V \text{样} \div T} \\ = 7.5 \times \frac{(A \text{测定管} - A \text{对照管})}{(A \text{标准管} - A \text{空白管})}$$

2、组织、细菌或细胞中Ca⁺⁺ Mg⁺⁺-ATPase活力的计算:

(1) 按蛋白浓度计算:

定义: 规定每小时每毫克组织蛋白中Ca⁺⁺ Mg⁺⁺-ATP酶分解ATP产生1μmol无机磷的量为一个酶活力单位。

$$\text{Ca}^{++} \text{Mg}^{++}\text{-ATP酶活力 (U/mg)} = \frac{C \text{标准管} \times (A \text{测定管} - A \text{对照管})}{(A \text{标准管} - A \text{空白管}) \times V \text{总} \div (C \text{pr} \times V \text{样}) \div T} \\ = 7.5 \times \frac{(A \text{测定管} - A \text{对照管})}{(A \text{标准管} - A \text{空白管}) \div C \text{pr}}$$

(2) 按样本鲜重计算:

定义: 规定每小时每克组织中Ca⁺⁺ Mg⁺⁺-ATP酶分解ATP产生1μmol无机磷的量为一个酶活力单位。

$$\text{Ca}^{++} \text{Mg}^{++}\text{-ATP酶活力 (U/g)} = \frac{C \text{标准管} \times (A \text{测定管} - A \text{对照管})}{(A \text{标准管} - A \text{空白管}) \times V \text{总} \div (V \text{样} \div V \text{样总} \times W) \div T} \\ = 7.5 \times \frac{(A \text{测定管} - A \text{对照管})}{(A \text{标准管} - A \text{空白管}) \div W}$$

(3) 按细菌或细胞密度计算:

定义: 规定每小时每1万个细菌或细胞中Ca⁺⁺ Mg⁺⁺-ATP酶分解ATP产生1μmol无机磷的量为一个酶活力单位。

$$\text{Ca}^{++} \text{Mg}^{++}\text{-ATP酶活力 (U/10}^4) = \frac{C \text{标准管} \times (A \text{测定管} - A \text{对照管})}{(A \text{标准管} - A \text{空白管}) \times V \text{总} \div (V \text{样} \div V \text{样总} \times 500) \div T} \\ = 0.015 \times \frac{(A \text{测定管} - A \text{对照管})}{(A \text{标准管} - A \text{空白管})}$$

C 标准管: 标准管浓度, 0.5μmol/mL; V总: 酶促反应总体积, 0.5mL; V样: 加入样本体积, 0.2mL; V样总: 加入提取液体积, 1mL; T: 反应时间, 1/6小时; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本鲜重, g; 500: 细菌或细胞总数, 500万。

注意事项:

- 1、由于每一个样都必须做对照, 本试剂盒50管只能测24份Ca⁺⁺ Mg⁺⁺-ATP酶。
- 2、此法具有微量、灵敏、快速的特点。所以对测定所用试管要求严格无磷。避免磷污染是检测成败的关键。
- 3、空白管和标准管只要做一管。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com