

ATP酶测试盒（组织及细胞膜不需高速离心）

产品货号：BA2955

产品规格：50 tests

产品简介：

ATP酶存在与组织细胞及细胞器的膜上，是生物膜上的一种蛋白酶，它在物质运送、能量转换以及信息传递方面具有重要的作用。

ATP酶可分解ATP生成ADP及无机磷，测定无机磷的量可判断ATP酶活力的高低。

本试剂盒可以测不需要高速离心的红细胞膜以及不需要高速离心的组织匀浆中的ATP酶，可测 Na^+K^+ 、 $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}$ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} -ATPase。

产品组成：

产品名称	50 tests	保存条件	备注
Buffer A	10ml×3瓶	2-8℃	
Buffer B	10ml×1瓶	2-8℃	
Buffer C	10ml×1瓶	2-8℃	
试剂 D	粉剂×3支	-20℃以下	用时每支加水至5mL，现用现配。余下的-20℃以下可保存一周
试剂 E	粉剂×1支	2-8℃	用时加水至5mL，适当加热溶解
试剂 F	粉剂×1支	室温	用时加水至10mL
Buffer G	10ml×2瓶	2-8℃	用时加水至25mL
试剂 H	粉剂×3瓶	2-8℃，避光	用时每支加水至40mL溶解，溶解后2-8℃避光保存一周
试剂 I	粉剂×1瓶	室温	用时每瓶加水至100mL溶解
Buffer J	100ml×1瓶	2.5mol/L硫酸， 2-8℃	按H ₂ O：试剂J：试剂H：试剂I=2：1：1：1的比例配制定磷剂
Buffer K	10ml×1瓶	10mmol/L标准 磷储备液 2-8℃	用时将贮备液10倍稀释，即取1mL加蒸馏水至10mL

试剂盒以外自备仪器和试剂：

分光光度计/酶标仪/半自动生化分析仪（比色测定波长为412nm）

台式离心机、恒温水浴箱或气浴箱（孵育温度为37℃）、微量移液器、漩涡混匀器

操作步骤：

1. 少量样本检测方法：

1.1 酶促反应

管号	对照管	Na^+K^+ -ATP酶管	Mg^{2+} -ATP酶管	Ca^{2+} -ATP酶管	$\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}$ -ATP酶管
Buffer A (μL)	130	130	90	130	90
Buffer B (μL)	40	40	40		40
Buffer C (μL)				40	40
试剂 D (μL)	40	40	40	40	40
试剂 E (μL)			40	40	40
试剂 F (μL)	40	40	40		
待测样本 (μL)		200	200	200	200
混匀，37℃水浴准确反应10min。					



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

Buffer G (μL)	50	50	50	50	50
样本 (μL)	200				
混匀，离心3000—4000rpm×10min，取上清200μL定磷。					

1.2 定磷反应

	标准管	对照管	Na ⁺ K ⁺ -ATP酶管	Mg ²⁺ -ATP酶管	Ca ²⁺ -ATP酶管	Ca ²⁺ Mg ²⁺ -ATP酶管
1μmol/mL标准磷应用液 (μL)	200					
上清液 (μL)		200	200	200	200	200
定磷剂 (μL)	2000	2000	2000	2000	2000	2000
混匀，37℃水浴30min，冷却至室温，在660nm处，1cm光径，蒸馏水调零比色，读取吸光值。						

2. 大量样本简便操作法

2.1 测试将A、B、C、D、E五种混合试剂配制好：根据规范操作表中各管的试剂量乘以您所需要测试的样本数（n）再放1~2只管的数量（避免吸到最后试剂量不够），然后纵向混合。具体配制见下表

管号	对照管液体量	Na ⁺ K ⁺ -ATP酶管液体量	Mg ²⁺ -ATP酶管液体量	Ca ²⁺ -ATP酶管液体量	Ca ²⁺ Mg ²⁺ -ATP酶管液体量
Buffer A (μL)	130× (n+2)	130× (n+2)	90× (n+2)	130× (n+2)	90× (n+2)
Buffer B (μL)	40× (n+2)	40× (n+2)	40× (n+2)		40× (n+2)
Buffer C (μL)				40× (n+2)	40× (n+2)
试剂 D (μL)	40× (n+2)	40× (n+2)	40× (n+2)	40× (n+2)	40× (n+2)
试剂 E (μL)			40× (n+2)	40× (n+2)	40× (n+2)
试剂 F (μL)	40× (n+2)	40× (n+2)	40× (n+2)		
混合试剂总量 (μL)	250× (n+2)	250× (n+2)	250× (n+2)	250× (n+2)	250× (n+2)
每管应吸液量 (μL)	250	250	250	250	250

2.2 酶促反应

管号 (μL)	对照管	Na ⁺ K ⁺ -ATP酶管	Mg ²⁺ -ATP酶管	Ca ²⁺ -ATP酶管	Ca ²⁺ Mg ²⁺ -ATP酶管
A 液 (μL)	250				
B 液 (μL)		250			
C 液 (μL)			250		
D 液 (μL)				250	
E 液 (μL)					250
样本 (μL)		200	200	200	200
混匀，37℃水浴准确反应10min。					
Buffer G	50	50	50	50	50
样本	200				
混匀，离心3000—4000rpm×10min，取上清100μL定磷。					

2.3 定磷反应

	标准管	对照管	Na ⁺ K ⁺ -ATP酶管	Mg ²⁺ -ATP酶管	Ca ²⁺ -ATP酶管	Ca ²⁺ Mg ²⁺ -ATP酶管
--	-----	-----	---------------------------------------	-------------------------	-------------------------	--



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

1μmol/m标准 磷应用液 (μL)	200					
上清液 (μL)		200	200	200	200	200
定磷剂 (μL)	2000	2000	2000	2000	2000	2000
混匀, 37°C水浴30min, 冷却至室温, 在660nm处, 1cm光径, 蒸馏水调零比色。						

3. 计算公式:

每小时每毫克蛋白分解ATP产生1μmol无机磷的量为一个ATP酶活力单位。即μmolPi/mgprot/hour(U/mgprot)

ATPase 活力 = ((测定管OD - 对照管OD) ÷ 标准管OD) × 标准品浓度 (1μmol/L) × 反应体系中样本稀释倍数
** × (60 ÷ T) * ÷ 蛋白浓度 (mg/mL) ***

* T反应时间为10分钟;

** 酶促反应体系中样本稀释倍数, 2.5;

*** mg/mL。

注意事项:

1. 试剂F为过饱和溶液, 所以在配制时最好用90°C~100°C的热蒸馏水10.3mL (热胀冷缩) 边隔水加热边用玻璃棒搅拌, 以使其充分溶解。一次实验用不完再用时可能有结晶, 用之前可以再次边隔水加热边用玻璃棒搅拌使其溶解。
2. 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。
3. 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, 要没有一点磷, 若试管放过磷酸或磷酸盐缓冲液, 一定要洗的非常干净, 要先用洗洁精加水煮, 再用自来水冲, 最后用蒸馏水冲干净。
4. 定磷剂配好后, 不可放置太久, 一般保存一天, 最好现用现配, 随时放冰箱。
5. 本试剂盒保证做100份A、B、C、D管。因目前学术界对钙镁ATPase能否分开有争议, 如果不需分开, 即测Ca²⁺Mg²⁺-ATP酶; 如果认为可以分开可测Mg²⁺ATP酶和Ca²⁺-ATP酶。
6. 最好采用先配A、B、C、D、E五种混合液中的集中, 然后按简化操作步骤进行检测。这样快捷、准确。
7. 所有配试剂的器皿均要专用, 包括吸硫酸的吸管及盛水的器皿, 最好用新的。

实验范例:

取2%大鼠肝组织匀浆测ATPase, 测得各管吸光度值: 对照管为0.263, Na⁺K⁺-ATP酶管为0.351, Mg⁺-ATP酶管为0.337, Ca⁺⁺-ATP管为0.354, Ca⁺⁺-ATP管为0.345, 标准管为0.425。同时测得2%匀浆蛋白浓度为1.72mgprot/mL。则计算如下

$$\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATP酶活力} = ((0.351 - 0.263) \div 0.425) \times 0.5\mu\text{mol/L} \times 2.5 \times 6 \div 1.72\text{mgprot/mL} \\ = 0.903\mu\text{molPi/mgprot/hour}$$

$$\text{Mg}^{2+}\text{-ATP酶活力} = ((0.337 - 0.263) \div 0.425) \times 0.5\mu\text{mol/L} \times 2.5 \times 6 \div 1.72\text{mgprot/mL} \\ = 0.759\mu\text{molPi/mgprot/hour}$$

$$\text{Ca}^{2+}\text{-ATP酶活力} = ((0.354 - 0.263) \div 0.425) \times 0.5\mu\text{mol/L} \times 2.5 \times 6 \div 1.72\text{mgprot/mL} \\ = 0.943\mu\text{molPi/mgprot/hour}$$

$$\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}\text{-ATP酶活力} = ((0.345 - 0.263) \div 0.425) \times 0.5\mu\text{mol/L} \times 2.5 \times 6 \div 1.72\text{mgprot/mL} \\ = 0.841\mu\text{molPi/mgprot/hour}$$

保存条件: -20°C, 6个月有效。



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