

Ca²⁺-ATPase Activity Assay Kit

Ca²⁺-ATP 酶活性检测试剂盒 微板法

产品编号	产品名称	规格
BL1815B	Ca ²⁺ -ATP 酶活性检测试剂盒 微板法	48T

产品简介:

Ca²⁺是细胞内重要的信号分子，细胞质基质始终维持在一个较低水平的 Ca²⁺浓度，Ca²⁺浓度的维持主要由 Ca²⁺-ATP 酶来维持，该酶可催化 ATP 水解生成 ADP 和无机磷。通过测定无机磷的量来确定该酶活性高低。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	80mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	粉末×1 瓶	4°C保存	用前甩几下使试剂落入底部，再加 8mL 提取液，混匀溶解备用。
试剂二	粉末×1 瓶	-20°C保存	用前甩几下使试剂落入底部，再加 15mL 提取液，混匀溶解备用。
试剂三	4mL×1 瓶	4°C保存	
试剂四 A	粉末×1 瓶	4°C保存	临用前在试剂 A 中加 1.8mL 的 B 液，再加 23.2mL 的蒸馏水，混匀溶解备用。
试剂四 B	2mL×1 瓶	4°C保存	
标准品	粉末×1 支	4°C保存	若重新做标曲，则用到该试剂

使用方法:

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！

一、样本准备

1. 组织样本:

- 称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液，进行冰浴匀浆；
- 12000rpm 4°C离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量 (g) : 提取液体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例进行提取。

2. 细胞/细菌样本:

- 先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；
- 取 5×10⁶ 个细菌或细胞加入 1mL 提取液，超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；
- 12000rpm 4°C离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，按照每 0.5~1×10⁷ 个细菌/细胞加入 1mL 提取液进行提取。

3. 液体样本:

直接检测；若浑浊，离心后取上清检测。

二、样品测定

- 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 700nm。
- 所有试剂解冻至室温（25°C）。
- 在离心管中依次加入：

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



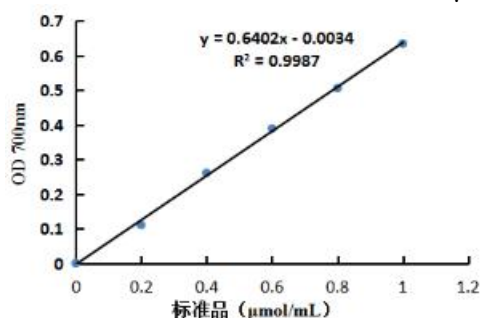
试剂名称 (μL)	测定管	对照管
试剂一	100	-
提取液	-	100
样本	100	-
试剂二	100	100
37°C 孵育 20min		
试剂三	40	40
样本	-	100
混匀, 12000rpm, 4°C离心 5min, 上清液待测		

4. 显色反应, 在 96 孔板中以此加入:

上清液	50	50
试剂四	200	200
混匀, 室温静置 3min, 700nm 下读取各管吸光值, ΔA=A 测定-A 对照 (每个样本做一个自身对照)。		

三、结果计算

1. 标准曲线方程: $y = 0.6402x - 0.0034$, x 是标准品摩尔质量 (μmol/mL), y 是 ΔA。



2. 按蛋白浓度计算:

定义: 每小时每毫克组织蛋白分解 ATP 产生 1μmol 无机磷的量为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{酶活力}(\mu\text{mol/h/mg prot}) &= [(\Delta A + 0.0034) \div 0.6402 \times V2] \div (V1 \times Cpr) \div T \\ &= 15.93 \times (\Delta A + 0.0034) \div Cpr \end{aligned}$$

3. 按样本鲜重计算:

定义: 每小时每克组织分解 ATP 产生 1μmol 无机磷的量为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{酶活力}(\mu\text{mol/h/g 鲜重}) &= [(\Delta A + 0.0034) \div 0.6402 \times V2] \div (W \times V1 \div V) \div T \\ &= 15.93 \times (\Delta A + 0.0034) \div W \end{aligned}$$

4. 按细菌或细胞密度计算:

定义: 每小时每 1 万个细菌或细胞分解 ATP 产生 1μmol 无机磷的量为一个酶活力单位。

$$\text{酶活力}(\mu\text{mol/h} / 10^4 \text{ cell}) = [(\Delta A + 0.0034) \div 0.6402 \times V2] \div (500 \times V1 \div V) \div T = 0.032 \times (\Delta A + 0.0034)$$

5. 液体中 Ca²⁺-ATPase 活力计算:

定义: 每小时每毫升液体分解 ATP 产生 1μmol 无机磷的量为一个酶活力单位。

$$\text{酶活力}(\mu\text{mol/h/mL}) = [(\Delta A + 0.0034) \div 0.6402 \times V2] \div V1 \div T = 15.93 \times (\Delta A + 0.0034)$$

V---加入提取液体积, 1mL

V2---酶促反应总体积, 0.34mL

W---样本鲜重, g

Cpr---样本蛋白质浓度, mg/mL

V1---加入样本体积, 0.1mL

T---反应时间, 1/3 小时

500---细菌或细胞总数, 500 万

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



附：标准曲线制作过程：

1. 制备标准品母液（50 $\mu\text{mol/mL}$ ）：标准品用 1mL 提取液溶解。（母液需在两天内用）。
2. 把母液用蒸馏水稀释成六个浓度梯度的标准品：0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1 $\mu\text{mol/mL}$ 。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
3. 依据显色反应阶段测定管的加样体系操作，根据结果即可制作标准曲线。

注意事项：

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：

-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存六个月。

