

## Ca<sup>2+</sup>-ATPase Activity Assay Kit

### Ca<sup>2+</sup>-ATP 酶活性检测试剂盒 分光法

产品编号	产品名称	规格
BL1815A	Ca <sup>2+</sup> -ATP 酶活性检测试剂盒 分光法	24T

#### 产品简介:

Ca<sup>2+</sup>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 Ca<sup>2+</sup>浓度，Ca<sup>2+</sup>浓度的维持主要由 Ca<sup>2+</sup>-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	60mL×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	临用前试剂 A 中加 2.9mL 的 B 液，再加 37.1mL 的蒸馏水，混匀溶解备用。
试剂四 B	3mL×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。

**【注】**：全程操作需无磷环境；试剂配置最好用新的枪头和玻璃移液器等，也可以用一次性塑料器皿，避免磷污染。

#### 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:

- (a) 称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液，进行冰浴匀浆；
- (b) 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:

- (a) 先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；
- (b) 取 5×10<sup>6</sup> 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）；
- (c) 12000rpm 4°C离心 10min，取上清，置冰上待测。

**【注】**：若增加样本量，按照每 0.5~1×10<sup>7</sup> 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

1. 可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 700nm，蒸馏水调零。
2. 所有试剂解冻至室温（25°C）。

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。



3. 在离心管中依次加入:

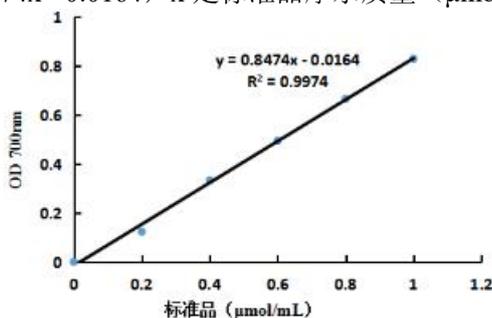
试剂名称 (μL)	测定管	对照管
试剂一	200	-
提取液	-	200
样本	200	-
试剂二	200	200
37°C 孵育 20min		
试剂三	80	80
样本	-	200
混匀, 12000rpm, 4°C离心 5min, 上清液待测		

4. 显色反应:

上清液	150	150
试剂四	600	600
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:  $y = 0.8474x - 0.0164$ , 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。

$$\begin{aligned} \text{酶活力}(\mu\text{mol/h/mg prot}) &= [(\Delta A + 0.0164) \div 0.8474 \times V2] \div (V1 \times Cpr) \div T \\ &= 12.04 \times (\Delta A + 0.0164) \div Cpr \end{aligned}$$

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。

$$\begin{aligned} \text{酶活力}(\mu\text{mol/h/g 鲜重}) &= [(\Delta A + 0.0164) \div 0.8474 \times V2] \div (W \times V1 \div V) \div T \\ &= 12.04 \times (\Delta A + 0.0164) \div W \end{aligned}$$

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。

$$\begin{aligned} \text{酶活力}(\mu\text{mol/h} / 10^4 \text{ cell}) &= [(\Delta A + 0.0164) \div 0.8474 \times V2] \div (500 \times V1 \div V) \div T \\ &= 0.024 \times (\Delta A + 0.0164) \end{aligned}$$

5. 液体中 Ca<sup>2+</sup>-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。

$$\text{酶活力}(\mu\text{mol/h/mL}) = [(\Delta A + 0.0164) \div 0.8474 \times V2] \div V1 \div T = 12.04 \times (\Delta A + 0.0164)$$

V---加入提取液体积, 1mL

V1---加入样本体积, 0.2mL

V2---酶促反应总体积, 0.68mL

T---反应时间, 1/3 小时

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。



W---样本鲜重, g

500---细菌或细胞总数, 500 万

Cpr---样本蛋白质浓度, mg/mL

**附：标准曲线制作过程：**

1. 制备标准品母液（50 $\mu$ 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  $\mu$ 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 $^{\circ}$ C保存六个月。

