

Ca²⁺-ATPase Activity Assay Kit

Ca²⁺-ATP 酶活性检测试剂盒 分光法

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

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	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 5×10⁶ 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);
- (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 0.5~1×10⁷ 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

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:

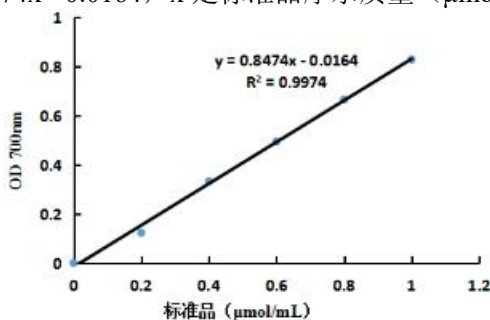
试剂名称 (μL)	测定管	对照管
试剂一	200	-
提取液	-	200
样本	200	-
试剂二	200	200
37°C 孵育 20min		
试剂三	80	80
样本	-	200
混匀, 12000rpm, 4°C离心 5min, 上清液待测		

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。

$$\begin{aligned} \text{酶活力}(\mu\text{mol/h/mg prot}) &= [(\Delta A + 0.0164) \div 0.8474 \times V_2] \div (V_1 \times C_{pr}) \div T \\ &= 12.04 \times (\Delta A + 0.0164) \div C_{pr} \end{aligned}$$

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。

$$\begin{aligned} \text{酶活力}(\mu\text{mol/h/g 鲜重}) &= [(\Delta A + 0.0164) \div 0.8474 \times V_2] \div (W \times V_1 \div V) \div T \\ &= 12.04 \times (\Delta A + 0.0164) \div W \end{aligned}$$

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。

$$\begin{aligned} \text{酶活力}(\mu\text{mol/h} / 10^4 \text{ cell}) &= [(\Delta A + 0.0164) \div 0.8474 \times V_2] \div (500 \times V_1 \div V) \div T \\ &= 0.024 \times (\Delta A + 0.0164) \end{aligned}$$

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。

$$\text{酶活力}(\mu\text{mol/h/mL}) = [(\Delta A + 0.0164) \div 0.8474 \times V_2] \div V_1 \div T = 12.04 \times (\Delta A + 0.0164)$$

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 μ 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 μ 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。

