

Na⁺/K⁺-ATPase Activity Assay Kit

Na⁺k⁺-ATP 酶活性检测试剂盒 微板法

产品编号	产品名称	规格
BL1814B	Na ⁺ k ⁺ -ATP 酶活性检测试剂盒 微板法	48T

产品简介:

Na⁺K⁺-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。通过测定无机磷的量来确定该酶活性大小。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	90mL×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 20mL 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:

(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. 酶标仪预热 30min 以上,调节波长至 700nm。

2. 所有试剂解冻至室温(25°C)。

3. 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。



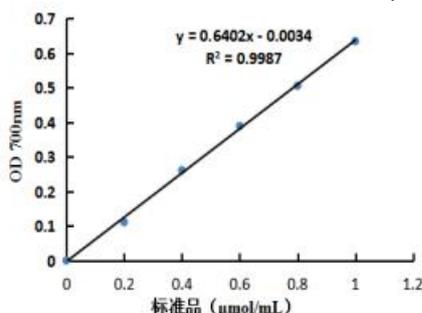
试剂名称 (μL)	测定管	对照管
试剂一	100	100
样本	100	-
试剂二	100	100
37°C 孵育 20min		
试剂三	40	40
样本	-	100
混匀, 12000rpm, 4°C离心 5min, 上清液待测		

4. 显色反应, 在 96 孔板中依次加入:

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 ($\mu\text{mol/mL}$), 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 $1\mu\text{mol}$ 无机磷的量为一个酶活力单位。

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

3. 按样本鲜重计算:

定义: 每小时每克组织分解 ATP 产生 $1\mu\text{mol}$ 无机磷的量为一个酶活力单位。

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

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 $1\mu\text{mol}$ 无机磷的量为一个酶活力单位。

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 $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$ 活力计算:

定义: 每小时每毫升液体分解 ATP 产生 $1\mu\text{mol}$ 无机磷的量为一个酶活力单位。

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



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。

