



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

Ca⁺⁺Mg⁺⁺-ATP酶活性检测试剂盒(可见分光光度法)

货号: R41924

规格: 50T/24S

有效期: 6个月

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
提取液	50mL×1瓶	2-8℃保存;
试剂-A	10mL×1瓶	2-8℃保存;
试剂-B	5mL×1瓶	2-8℃保存;
试剂-C	5mL×1瓶	2-8℃保存;
试剂-D	粉剂×3支	-20℃保存。用时每支加1mL蒸馏水, 现用现配。用不完的试剂 -20℃可保存一周。
试剂-E	5mL×1瓶	2-8℃保存;
试剂-F	粉剂×1瓶	2-8℃保存; 用时加入3mL蒸馏水, 2-8℃保存。
试剂-G	粉剂×1瓶	2-8℃保存; 用时加入25mL蒸馏水, 溶解后2-8℃保存一周。
试剂-H	粉剂×1瓶	2-8℃保存; 用时加入25mL蒸馏水, 溶解后2-8℃保存一周。
试剂-I	25mL×1瓶	室温保存;
试剂-标储	1mL×1瓶	10mmol/L标准磷贮备液, 2-8℃保存。
标准磷应用液 0.5μmol/mL:	试剂-标储20倍稀释, 即取0.1mL试剂-标储加1.9mL蒸馏水, 充分混匀即可。	
定磷剂的配制:	按H ₂ O:试剂-G:试剂-H:试剂-I=2:1:1:1的比例配制, 配好的定磷剂应为浅黄色。若无色则试剂失效, 若是蓝色则为磷污染, 定磷剂现用现配。	

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定



注意：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。

简介

意义：Ca⁺⁺Mg⁺⁺-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。

原理：根据 Ca⁺⁺Mg⁺⁺-ATP 酶分解 ATP 生成 ADP 及无机磷，通过测定无机磷的量来确定 ATP 酶活性高低。

自备用品：

可见分光光度计、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

样品酶液的制备：

1. 细菌、细胞或组织样品的制备：细菌或培养细胞：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照细菌或细胞数量（10⁴个）：提取液体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液），超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；8000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

2. 组织：按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL提取液），进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

3. 血清（浆）样品：直接检测。

测定步骤：

1. 分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 660nm，蒸馏水调零。

2. 酶促反应（在 EP 管中加入下列试剂）

试剂名称	对照管(μL)	测定管(μL)
试剂-A	130	90
试剂-B	40	40
试剂-C	40	40



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

试剂-D	40	40
试剂-E		40
样本		200
混匀, 37°C(哺乳动物)或25°C(其他物种)准确水浴10min		
试剂-F	50	50
样本	200	
混匀, 8000g, 25°C离心10min, 取上清液		

3. 定磷(1.5mLEP管中依次加入下列试剂)

	空白管(μL)	标准管(μL)	对照管(μL)	测定管(μL)
标准磷应用液 0.5μmol/mL		100		
上清液			100	100
蒸馏水	100			
定磷试剂	1000	1000	1000	1000
混匀, 室温放置30min, 在660nm处比色, 记录各管吸光值。				

注意事项:

1. 由于每一个样都必须做对照, 本试剂盒 50 管只能测 24 份 Ca⁺⁺Mg⁺⁺-ATP 酶。
2. 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无磷。避免磷污染是检测成败的关键。
3. 空白管和标准管只要做一管。

Ca⁺⁺Mg⁺⁺-ATP 酶活性计算公式:

1. 血清(浆) Ca⁺⁺Mg⁺⁺-ATP 酶活力的计算

定义: 规定每小时每毫升血清(浆)中 Ca⁺⁺Mg⁺⁺-ATP 酶分解 ATP 产生 1μmol 无机磷的量为一个酶活力单位。

$$\text{Ca}^{++}\text{Mg}^{++}\text{-ATP 酶活力} (\mu\text{mol/h/ mL}) = [C \text{ 标准管} \times V \text{ 总}] \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div V \text{ 样} \div T = 7.5 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管})$$

2. 组织、细菌或细胞中 Ca⁺⁺Mg⁺⁺-ATP 酶活力的计算:

(1) 按蛋白浓度计算:



定义: 每小时每毫克组织蛋白中 $\text{Ca}^{++}\text{Mg}^{++}$ -ATP 酶分解 ATP 产生 $1\mu\text{mol}$ 无机磷的量为一个酶活力单位。

$\text{Ca}^{++}\text{Mg}^{++}$ -ATP 酶活力 ($\mu\text{mol/h/mg}$) = $[\text{C 标准管} \times \text{V 总}] \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \div (\text{V 样} \times \text{Cpr}) \div \text{T} = 7.5 \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \div \text{Cpr}$

(2) 按样本鲜重计算:

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

$\text{Ca}^{++}\text{Mg}^{++}$ -ATP 酶活力 ($\mu\text{mol/h/g}$) = $[\text{C 标准管} \times \text{V 总}] \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \div (\text{W} \times \text{V 样} \div \text{V 样总}) \div \text{T} = 7.5 \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \div \text{W}$

(3) 按细菌或细胞密度计算:

定义: 规定每小时每 1 万个细菌或细胞中 $\text{Ca}^{++}\text{Mg}^{++}$ -ATP 酶分解 ATP 产生 $1\mu\text{mol}$ 无机磷的量为一个酶活力单位。

$\text{Ca}^{++}\text{Mg}^{++}$ -ATP 酶活力 ($\mu\text{mol/h}/10^4$) = $[\text{C 标准管} \times \text{V 总}] \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管}) \div (500 \times \text{V 样} \div \text{V 样总}) \div \text{T} = 0.015 \times (\text{A 测定管} - \text{A 对照管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管})$

注: C 标准管: 标准管浓度, $0.5\mu\text{mol/mL}$; V 总: 酶促反应总体积, 0.5mL ;
V 样: 加入样本体积, 0.2mL ; V 样总: 加入提取液体积, 1mL ; T: 反应时间,
 $1/6$ 小时; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL ; W: 样本鲜重, g ; 500: 细菌或细胞总数, 500 万。