



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

Na⁺K⁺ -ATP酶活性检测试剂盒(微量法)

货号: R41927

规格: 100T/48S

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ES37	60mL×1瓶	2-8℃保存;
试剂-A	10mL×1瓶	2-8℃保存;
试剂-B	粉剂×1瓶	-20℃保存; 临用前加入6mL蒸馏水充分混匀待用; 用不完的试剂2-8℃保存一周;
试剂-C	2mL×1瓶	2-8℃保存。
试剂-D	粉剂×1瓶	2-8℃保存。用时加入3mL蒸馏水, 2-8℃保存。
试剂-E	粉剂×1瓶	2-8℃保存。用时加入5mL蒸馏水, 溶解后2-8℃保存一周
试剂-F	粉剂×1瓶	2-8℃保存。用时加入5mL蒸馏水, 溶解后2-8℃保存一周
试剂-G	5mL×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)配制: 将试剂-(标储)用蒸馏水20倍稀释充分混匀即可。		
定磷剂的配制: 按H ₂ O:试剂-E:F:G=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: 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。

原理: Na⁺K⁺-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。

自备用品:



可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵、冰和蒸馏水。

粗酶液提取:

1. 组织样本的制备:

按照组织质量(g): 提取液 ES37 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 ES37), 进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

2. 细菌或细胞样本的制备:

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(10^4 个): 提取液 ES37 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 ES37), 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。

3. 血清(浆)样品: 直接检测。

测定步骤:

1. 分光光度计/酶标仪预热 30min, 调节波长到 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(μ L)	测定管(μ L)
试剂-A	65	45
试剂-B	60	60
试剂-C		20
样本		100
混匀, 37℃(哺乳动物)或25℃(其他物种)准确水浴10min		
试剂-D	25	25
样本	100	
混匀, 8000g, 25℃离心10min, 取上清液		

3. 定磷(在 EP 管或 96 孔板中加入下列试剂)



上清液	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)		20		
上清液(μL)			20	20
蒸馏水	20			
定磷试剂	200	200	200	200
混匀, 室温放置30min, 在660nm处, 记录各管吸光值A: A空白管、A标准管、A对照管、A测定管。				

注意事项:

- (1) 由于每一个样都必须做对照, 本试剂盒100 管保证测 48 份Na+K+- 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。
- (3) 空白管和标准管各只要做 1-2 管。

Na+K+- ATP 酶活性计算:

1. 血清(浆) Na+K+-ATP 酶活力的计算:

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

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

2. 组织、细菌或细胞中 Na+K+-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 Na+K+-ATP 酶分解 ATP 产生 1μmol 无机磷的量为一个酶活力单位。

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

(2) 按样本鲜重计算:

定义: 每小时每克组织中 Na+K+-ATP 酶分解 ATP 产生 1μmol 无机磷的量为一个酶活力单位。



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

$$\text{Na}^+\text{K}^+-\text{ATP 酶活力 } (\mu\text{mol/h/g 鲜重}) = \frac{[C \text{ 标准管} \times V_{\text{总}}] \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}})}{(A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}) \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T} = 7.5 \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}) \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}) \div W$$

(3) 按细菌或细胞密度计算:

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

$$\text{Na}^+\text{K}^+-\text{ATP 酶活力 } (\mu\text{mol/h}/10^4 \text{ cell}) = \frac{[C \text{ 标准管} \times V_{\text{总}}] \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}})}{(A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}) \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T} = 0.015 \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}) \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}})$$

注: C 标准管: 标准管浓度, $0.5\mu\text{mol/mL}$; $V_{\text{总}}$: 酶促反应总体积, 0.25mL ;
 $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.1mL ; $V_{\text{样总}}$: 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。