



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(可见分光光度法)

货号: R41926

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ES37	30mL×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瓶	-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	10μmol/mL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-G:H: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: 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、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。

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(μL)	测定管(μL)
试剂-A	130	90
试剂-B	40	40
试剂-C	40	40
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 (在 1.5ml EP 管中加入下列试剂)

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)		100		
上清液(μL)			100	100
蒸馏水	100			
定磷试剂	1000	1000	1000	1000
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 50 管保证测 24 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) 空白管和标准管只要各做 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。

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

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。



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

(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 1 μmol 无机磷的量为一个酶活力单位。

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

(3) 按细菌或细胞密度计算:

定义: 每小时每 1 万个细菌或细胞中 Na+K+-ATP 酶分解 ATP 产生 1 μmol 无机磷的量为一个酶活力单位。

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

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。