

Ca²⁺Mg²⁺-ATP酶活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PMHG5-M48	Ca ²⁺ Mg ²⁺ -ATP酶活性检测试剂盒	48T	微量法
PMHG5-M96		96T	

一、测定意义：

植物钙镁 ATP 酶（Ca²⁺/Mg²⁺-ATPase）的测定在植物生理学、生物化学以及环境胁迫响应研究中具有重要意义。植物 Ca²⁺/Mg²⁺-ATPase 的测定是理解植物离子稳态、抗逆机制及能量代谢的重要切入点，其研究兼具理论价值和应用潜力。

二、测定原理：

钙镁 ATP 酶（Ca²⁺/Mg²⁺-ATPase）通过水解 ATP 主动转运 Ca²⁺或 Mg²⁺，并伴随无机磷（Pi）的释放。通过检测酶促反应中 ATP 的消耗、Pi 的生成或离子转运效率，在 660nm 波长下读数，反映酶活性。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(48T)	试剂装量(96T)	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 110mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 5mL×1 瓶	液体 10mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 5mL×1 瓶	液体 10mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 5mL×1 瓶	液体 10mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四	液体 5mL×1 瓶	液体 10mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂五	粉剂 ×1 支	粉剂×2 支	-20℃保存
试剂五的配制： 用时每瓶粉剂加 0.5ml 双蒸水，现用现配。使用后剩余试剂-20℃以下可保存一周。			
试剂六	粉剂 ×1 瓶	粉剂×2 瓶	-20℃保存
试剂六的配制： 用时每瓶粉剂加 5ml 双蒸水，现用现配。使用后剩余试剂-20℃以下可保存一周。			
试剂七	液体 5mL×1 瓶	液体 10mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂八	粉剂 ×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8℃保存
试剂八的配制： 用时每瓶加双蒸水 10mL 溶解，室温保存 3 个月。			
试剂九	粉剂 ×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8℃保存

试剂九的配制： 用时每瓶加双蒸水 10mL 溶解，溶解后避光 4℃可保存一周。			
试剂十	液体 5mL×1 瓶	液体 10mL×1 瓶	2-8℃保存
定磷试剂的配制： 现用现配，按双蒸水:试剂八:试剂九:试剂十=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。			
10μmol/mL 标品	液体 1ml×1 支	液体 1ml×2 支	-20℃保存

四、操作步骤：

样本前处理

取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，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），旋涡混匀抽提 3-5 分钟或者使用组织破碎仪冰浴提取，8000g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

测定步骤

- 1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 660nm，蒸馏水调零；
- 2、测定前将试剂恢复至常温；
- 3、将 10μmol/mL 标准品用双蒸水稀释至 1μmol/mL，备用；
- 4、操作表（在玻璃比色皿中加入以下试剂）：

（1）酶促反应：

试剂名称	测定管	标准管
试剂一（μL）	40	30
试剂二（μL）	40	40
试剂三（μL）	-	10
试剂四（μL）	10	10
试剂五（μL）	-	10
试剂六（μL）	10	10
样品（μL）	100	-

混合均匀，37℃ 水浴 20min。		
试剂七 (μL)	50	50
样品 (μL)	-	100

(2) 显色反应：

试剂名称	测定管	对照管	空白管	标准管
1μmol/mL 标准液 (μL)	-	-	-	20
上清液 (μL)	20	20	-	-
蒸馏水 (μL)	-	-	20	-
定磷试剂 (μL)	200	200	200	200
混匀，45℃孵育 20min，冷却至室温后，空白管调零，于波长 660nm 测定各管吸光度。 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。空白与标准点做 2~3 个即可。				

五、Ca²⁺Mg²⁺-ATP 酶活性计算：

1、按样本质量计算：

单位定义：每分钟每克组织消耗 ATP 产生 1μmol 无机磷的量为一个 ATP 酶活力单位。

$$\text{ATP (U/g 质量)} = C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T$$

$$= \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \times 0.125$$

2、按蛋白浓度计算：

单位定义：每分钟每毫克蛋白分解 ATP 产生 1μmol 无机磷的量为一个 ATP 酶活力单位。

$$\text{ATP (U/mg prot)} = C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{总}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T$$

$$= \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}} \times 0.125$$

$C_{\text{标}}$ ：标准管浓度，1μmol/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，20min； C_{pr} ：样本蛋白质浓度，mg/mL； W ：样本质量，

g；500：细菌或细胞总数，500 万。

六、注意事项：

实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期：2025 年 4 月 7 日

修改日期：2025 年 4 月 7 日