

超微量 Na⁺K⁺ 、Ca²⁺Mg²⁺-ATP 酶测试盒

75 管/25 样

一、测定原理：

ATP 酶可分解 ATP 生成 ADP 及无机磷，测定无机磷的量可判断 ATP 酶活力的高低。

二、试剂组成与配制：

	组份			保存
试剂一	液体	20ml×1 瓶	20ml×2 瓶	4℃保存 6 个月
试剂二	液体	4ml×2 瓶	4ml×4 瓶	4℃保存 6 个月
试剂三	粉剂	粉剂×6 支	粉剂×12 支	-20℃保存 6 个月
试剂三的配制： 用时每支试剂三粉剂加双蒸水 1ml，充分溶解。（用不完-20℃以下可保存一周。）				
试剂四	液体	5ml×2 瓶	5ml×4 瓶	4℃保存 6 个月
试剂五	甲液	7ml×6 瓶	7ml×12 瓶	4℃保存 6 个月
	乙液	6ml×6 瓶	6ml×12 瓶	4℃避光保存 6 个月
[注]： 试剂五乙液在冬天或 4℃长时间保存时可能会出现凝胶状物质，37℃溶解不了，可将其 60℃左右水浴 10 分钟即可完全溶解；甲液、乙液应防止磷污染。				
试剂六	液体	80ml×1 瓶	80ml×2 瓶	室温保存 6 个月
试剂七	10mmol/L 标准磷贮备液	5ml×1 瓶	5ml×1 瓶	4℃保存 6 个月
试剂八	液体	4ml×1 瓶	4ml×2 瓶	4℃保存 6 个月
试剂九	粉剂	粉剂×4 支	粉剂×8 支	4℃保存 6 个月
	稀释液	0.5ml×4 支	0.5ml×8 支	4℃保存 6 个月
试剂九的配制： 用时取一支试剂九稀释液加入一支试剂九粉剂中，充分混匀，用不完的 4℃保存。				
试剂十	液体	1ml×2 支	1ml×4 支	4℃保存 6 个月
双蒸水		40ml×1 瓶	40ml×1 瓶	4℃或室温保存
0.1 μ mol/ml 标准磷应用液的配制： 用时将 10mmol/L 磷贮备液 100 倍稀释，即取 0.1ml 加双蒸水至 10ml。				
0.02 μ mol/ml 磷标准液的配制： 用时将 0.1 μ mol/ml 磷标准液用双蒸水 5 倍稀释，即取 0.1 μ mol/ml 磷标准液 1ml 加双蒸水 4ml。				
基质液的配制： 按试剂一：试剂二：试剂三=260：80：80 比例混合。需多少配多少，现用现配。				
显色剂的配制： 用时取一瓶试剂五甲液加入一瓶已预温好试剂五乙液中，充分混匀，需提前 0.5 小时配制，2~8℃条件下至少可保存 5 天，配好的显色剂的量够做 13 个管子（如果你的样本量很少，所需的显色剂的量较少，那么你可以按试剂五中的甲液：乙液=7：6 的比例自行配制显色剂，需多少配多少（按比例配制显色剂时要防止磷污染，最好用专用吸嘴）。				

三、样本前处理：

样本处理详见说明书或本公司官网-技术文章部分关于样本处理的说明。

四、操作步骤：

1、酶促反应：

	对照管	Na ⁺ k ⁺ -ATPase 测定管	Ca ²⁺ Mg ²⁺ -ATPase 测定管
双蒸水 (ml)	0.16	0.1	
样本 (ml)		0.1	0.1
试剂八 (ml)			0.08
试剂九 (ml)			0.08
试剂十 (ml)		0.06	
试剂一 (ml)	0.26	0.26	0.26
试剂二 (ml)	0.08	0.08	0.08
试剂三 (ml)	0.08	0.08	0.08
混匀, 37°C准确反应 10 分钟,			
试剂四 (ml)	0.1	0.1	0.1
样本 (ml)	0.1		
混匀, 3000~4000 转/分离心 10 分钟, 取上清定磷			

2、定磷：（0.02 μ mol/ml 磷标准液及显色剂的配制见第一页）

	空白管	标准管	对照管	Na ⁺ k ⁺ -ATPase 测定管	Ca ²⁺ Mg ²⁺ -ATPase 测定管
双蒸水 (ml)	0.3				
0.02 μ mol/ml 磷标准液 (ml)		0.3			
上清液 (ml)			0.3	0.3	0.3
试剂五显色剂(ml)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
混匀后, 室温静置 2 分钟					
试剂六 (ml)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
混匀, 室温静置 5 分钟, 在 636nm 处, 1cm 光径, 双蒸水调零, 测各管吸光度值。					

七、全血中 ATPase 的计算公式及举例：

1、按红细胞数计算：

①、定义：规定每小时每 107 个红细胞中 ATP 酶分解 ATP 产生 1μmol 无机磷的量为一个 ATP 酶活力单位。即微摩尔磷/107 红细胞/小时 (μmolPi/107 个 RBC/hour)

②、公式:

$$\text{全血 ATPase 活力} = \frac{\text{测定值} - \text{对照值}}{\text{标准 OD 值} - \text{空白 OD 值}} \times \text{标准品浓度} \times 6^* \times \text{样本测试前} \times 7.8^{**} \times \left(\frac{\text{每毫升全血中}}{\text{RBC 个数}} \right) \div 10^7$$

(U/10 个 RBC) 值 (0.02μmol/ml) 稀释倍数 (RBC 个数)

[注]: 6*: 定义为每小时, 实际操作为 10 分钟反应, 所以必须乘以 6。

7.8**: 反应体系中 7.8 倍稀释。

2、按全血体积计算:

①、定义: 规定每小时每毫升全血中 ATP 酶分解 ATP 产生 1μmol 无机磷的量为一个 ATP 酶活力单位。即微摩尔磷/毫升/小时 (μmolPi/ml/hour)。

②、公式:

$$\text{全血 ATPase 活力} = \frac{\text{测定管 OD 值} - \text{对照管 OD 值}}{\text{标准管 OD 值} - \text{空白管 OD 值}} \times \text{标准管浓度} \times 6^* \times \text{样本测试前} \times 7.8^{**}$$

(U/ml) 值 (0.02 μmol/ml) 稀释倍数

[注]: 6*: 定义为每小时, 实际操作为 10 分钟反应, 所以必须乘以 6。

7.8**: 反应体系中 7.8 倍稀释。

3、按血红蛋白量计算:

①、定义: 规定每小时每克血红蛋白相当的红细胞中 ATP 酶分解 ATP 产生 1μmol 无机磷的量为一个 ATP 酶活力单位。即微摩尔磷/克血红蛋白/小时 (μmolPi/gHb/hour)。

②、公式:

$$\text{全血中 ATPase 活力} = \frac{\text{测定 OD 值} - \text{对照 OD 值}}{\text{标准 OD 值} - \text{空白 OD 值}} \times \text{标准品浓度} \times 6^* \times \text{样本测试前} \times 7.8^{**} \div \text{血红蛋白含量}$$

(U/gHb) 值 (0.02μmol/ml) 稀释倍数 (gHb/ml)

[注]: 6*: 定义为每小时, 实际操作为 10 分钟反应, 所以必须乘以 6。

7.8**: 反应体系中 7.8 倍稀释。