

## ATP 酶/GTP 酶检测试剂盒 (50T)

## 说 明

ATP 酶和 GTP 酶会催化 ATP 或 GTP 分解为 ADP 或 GDP 和游离磷酸盐。这些酶在运输、信号转导、蛋白质生物合成和细胞分化中起关键作用。本试剂盒提供了一种简单直接的以微孔板形式测量 ATP 酶 / GTP 酶活性的方法,使用单一试剂制剂即可在室温下准确测定酶活性。孔雀石绿试剂与酶释放的游离磷酸盐形成稳定的深绿色,产生与酶活性成正比的比色产物。一个活性单位是在测定条件下每分钟催化产生 1 $\mu$  摩尔游离磷酸盐的酶量。

## 试剂盒组成与保存

反应试剂:	12 mL	4°C 保存
缓冲液:	3 mL	4°C 保存
标准品:	1 mL 1 mM 磷酸盐	4°C 保存

**注意:** 使用前所有试剂放置到常温;应确保所用酶试剂样本不含磷酸。检查方法是将 200  $\mu$ L 反应试剂加入到 40  $\mu$ L 的样品中,在波长 620nm 处,OD 读数应该小于 0.3。若读数大于 0.3,请检查样本磷酸浓度。实验室洗涤剂应可能含有高含量的磷酸盐,请避免实验器皿接触到此类物质。

## 检测步骤:

1、绘制标准曲线:取 50  $\mu$ L 1 mM 磷酸盐标准品与 950  $\mu$ L 蒸馏水混合,配制成 50  $\mu$ M 的混合液。使用 96 孔板(透明平底),分别加 40  $\mu$ L 标准品至不同孔中。再加入 200  $\mu$ L 反应试剂,室温静置 30 分钟,读取 620 nm 处 OD 值,绘制标准曲线。

标号	混合液+水	磷酸盐浓度
1	100 $\mu$ L + 0 $\mu$ L	50 $\mu$ M
2	60 $\mu$ L + 40 $\mu$ L	30 $\mu$ M
3	30 $\mu$ L + 70 $\mu$ L	15 $\mu$ M
4	0 $\mu$ L + 100 $\mu$ L	0 $\mu$ M

2、酶样品检测:设定 40  $\mu$ L 反应量,按下面比例,将酶样本和不含酶的空白对照放入不同的孔中,反应 30 分钟。再加入 200  $\mu$ L 反应试剂,室温静置 30 分钟(反应试剂终止酶反应并且与酶反应产生的磷酸根生成有色化合物)。

反应孔	对照孔
20 $\mu$ L 缓冲液	20 $\mu$ L 缓冲液
10 $\mu$ L 酶样本	10 $\mu$ L H <sub>2</sub> O
10 $\mu$ L 4 mM ATP 或 GTP	10 $\mu$ L 4 mM ATP 或 GTP

酶活性:用反应孔的 OD 值减去对照孔的 OD 值。应选择适合的酶浓度,令测值在 0.5-1 间,以确保底物水解 (<10%) 处于线性反应动力学内,通过标准曲线可得到磷酸根浓度,从而计算出酶活性。1 单位酶活性相当于在检测条件下,每分钟催化产生 1 $\mu$  摩尔磷酸盐的量。

**防范措施:** 本产品仅供研究用,使用过程中应严格遵循实验安全措施,试剂含硫酸需回收处置。

