

ATP 酶/GTP 酶检测试剂盒 (100T)

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 μ 摩尔游离磷酸盐的酶量。

试剂盒组成与保存

反应试剂:	25 mL	4°C 保存
缓冲液:	6 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 μ L 反应试剂加入到 40 μ 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 μ L 1 mM 磷酸盐标准品与 950 μ L 蒸馏水混合, 配制成 50 μ M 的混合液。使用 96 孔板 (透明平底), 分别加 40 μ L 标准品至不同孔中。再加入 200 μ 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 μ L + 0 μ L	50 μ M
2	60 μ L + 40 μ L	30 μ M
3	30 μ L + 70 μ L	15 μ M
4	0 μ L + 100 μ L	0 μ M

2、酶样品检测: 设定 40 μ 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 μ 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 μ L 缓冲液	20 μ L 缓冲液
10 μ L 酶样本	10 μ L H ₂ O
10 μ L 4 mM ATP 或 GTP	10 μ 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 μ 摩尔游离磷酸盐的量。

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。