

ATP-
 (ATP-PEPCK)

9 6

产 品 简 介:

PEPCK)
 ATP

ATP PEPCK EC 4.1.1.49

GTP
 GTP PEPCK EC 4.1.1.32

ATP PEPCK

NADH
 NAD+
 340nm
 NADH
 PEPCK

试 剂 盒 组 成 和 配 制:

提取液	液体 110mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉剂 mg×1 支	4℃保存	临用前甩几下使试剂落入底部，再加 3.2mL 蒸馏水溶解备用。
试剂二	粉剂 mg×4 支	4℃保存	临用前甩几下使试剂落入底部，每支加 0.3mL 蒸馏水溶解备用。用不完的试剂分装后-20℃保存，禁止反复冻融，三天内用完。
试剂三	粉剂 mg×1 支	-20℃保存	临用前甩几下使试剂落入底部，再加 1.1mL 蒸馏水溶解备用。

试剂四	液体 14mL×1 瓶	4℃保存	
-----	-------------	------	--

所需的仪器和用品:

96

ATP-磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶 (ATP-PEPCK)活性测定:

2

1

0.1g

1mL

4 ×12000rpm

10min

[]

(g)

(mL)

1

5~10

/

500

1mL

20

200W

3s

10s

30

4 ×12000rpm

10min

[]

(104)

(mL)

500~1000

1

2

30 min

340nm

25

96

μ L	
试剂一	30
试剂二	10
试剂三	10
试剂四	140
样本	10
混匀，30℃条件下，立即于 340nm 处读取吸光值 A1，5min 后读取 A2 值，△A=A1-A2。	

[] 1. A 10min A2

2. A 2 5min 12000rpm, 4 10min

3. A 0.6 2min T

4. 10S A

结果计算:

1 1nmol NADH

ATP-PEPCK nmol/min/mg prot $[\Delta A \div \epsilon \times d \times V_2 \times 10^9] \div (V_1 \times Cpr) \div T = 1286.2 \times \Delta$

$A \div Cpr$

2

1 nmol NADH

ATP-PEPCK nmol/min/g $[\Delta A \div \epsilon \times d \times 10^9 \times V_2] \div (W \times V_1 \div V) \div T = 1286.2 \times \Delta$

$A \div W$

3 /

1

1 nmol NADH

ATP-PEPCK nmol/min/104 cell $[\Delta A \div \epsilon \times d \times 10^9 \times V_2] \div (500 \times V_1 \div V) \div T = 2.57 \times \Delta$

A

4

1 nmol NADH

ATP-PEPCK nmol/min/mL $[\Delta A \div \epsilon \times d \times 10^9 \times V_2] \div V_1 \div T = 1286.2 \times \Delta A$

ϵ ---NADH 6.22 $\times 10^3$ L/mol/cm d---96 0.5cm

V--- 1 mL V1--- 0.01 mL

V2--- 2 $\times 10^{-4}$ L T--- 5min

W--- g 500--- 500

Cpr--- mg/mL BCA