

酰基转移酶（AAT）活性检测试剂盒（可见分光光度法）

产品货号：BA1429

产品规格：10管/9样、25管/24样、50管/48样

产品简介：

AAT是一个多功能蛋白大家族，主要负责催化生物体内各种酰基化和去酰基化反应，在基因表达、代谢和信号传导中具有重要作用。

AAT催化乙酰CoA转移乙酰基到丁醇，同时还原DTNB生成TNB；TNB在412nm有吸收峰，测定412nm吸光度增加速率，来计算AAT活性。

注意：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。

产品组成：

试剂名称/规格	10T	25T	50T	保存条件
提取液	液体10mL×1瓶	液体25mL×1瓶	液体50mL×1瓶	4℃
试剂一	液体10mL×1瓶	液体25mL×1瓶	液体50mL×1瓶	4℃
试剂二	粉剂×1支	粉剂×1瓶	粉剂×1瓶	-20℃
试剂三	液体1mL×1支	液体2.5mL×1瓶	液体5mL×1瓶	4℃
试剂四	粉剂×1支	粉剂×1瓶	粉剂×1瓶	4℃

10T溶液的配制：

1. 提取液：内含不溶物，使用前摇匀；
2. 试剂二：临用前加蒸馏水0.6mL充分溶解，4℃保存；
3. 试剂四：临用前加入试剂一0.6mL充分溶解，4℃避光保存。

25T溶液的配制：

1. 提取液：内含不溶物，使用前摇匀。
2. 试剂二：临用前加蒸馏水1.5mL充分溶解，4℃保存。
3. 试剂四：临用前加入试剂一1.3mL充分溶解，4℃保存。

50T溶液的配制：

1. 提取液：内含不溶物，使用前摇匀。
2. 试剂二：临用前加蒸馏水2.6mL充分溶解，4℃保存。
3. 试剂四：临用前加入试剂一2.6mL充分溶解，4℃保存。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、1mL玻璃比色皿、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

组织样本：称取约0.1g样本，加提取液1mL，冰上充分研磨，15000g 4℃离心20min，取上清液待测。

血清（浆）样本：直接检测。

二、测定步骤

1. 分光光度计预热30min以上，调节波长至412nm，蒸馏水调零。
2. 试剂一在37℃水浴保温20min以上。
3. 样本测定：



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

试剂名称 (μL)	空白管	测定管
蒸馏水	100	-
上清液	-	100
试剂一 (预热)	700	700
试剂二	50	50
试剂三	100	100
试剂四	50	50

将上述试剂按顺序加入1mL玻璃比色皿中，加试剂四的同时开始计时，在412nm波长下记录10s时的初始吸光度A1和130s后的吸光值A2，计算 $\Delta A_{空}=A2_{空}-A1_{空}$ 、 $\Delta A_{测}=A2_{测}-A1_{测}$ 、 $\Delta A=\Delta A_{测}-\Delta A_{空}$ 。

三、AAT活性计算

1. 按样本蛋白浓度计算

单位的定义：37°C中每mL反应体系下每毫克蛋白每分钟催化吸光值变化0.001个单位为1个酶活单位。

$$AAT (U/mg \text{ prot}) = \Delta A \div 0.001 \div (Cpr \times V_{样}) \div T = 5000 \times \Delta A \div Cpr$$

此法需要自行测定样本蛋白质浓度。

2. 按样本质量计算

单位的定义：37°C中每mL反应体系下每克组织每分钟催化吸光值变化0.001个单位为1个酶活单位。

$$AAT (U/g \text{ 质量}) = \Delta A \div 0.001 \div (V_{样} \div V_{样总} \times W) \div T = 5000 \times \Delta A \div W$$

3. 按血清体积计算

单位的定义：37°C中每mL反应体系下每mL血清每分钟催化吸光值变化0.001个单位为1个酶活单位。

$$AAT (U/mL \text{ 血清}) = \Delta A \div 0.001 \div V_{样} \div T = 5000 \times \Delta A$$

Cpr: 上清液蛋白浓度, mg/mL; V样: 加入反应体系中上清液体积, 0.1mL; W: 样本质量, g; V样总: 提取液体积, 1mL; T: 反应时间, 2min。

注意事项:

1. 上清液蛋白质含量需要另外测定。
2. 当吸光值大于1时，建议稀释后测量。
3. 如果 $\Delta A_{测}$ 偏低，可以延长反应时间，如测定10s和310s的吸光度，相应修改计算公式中反应时间。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com