

## 酰基转移酶（AAT）活性检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1430

产品规格：100管/96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	保存条件
提取液	液体100mL×1瓶	4℃
试剂一	液体15mL×1瓶	4℃
试剂二	粉剂×1支	-20℃
试剂三	液体2mL×1瓶	4℃
试剂四	粉剂×1支	4℃

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1mL充分溶解，4℃保存。
3. 试剂四：临用前加入试剂一1mL充分溶解，4℃避光保存。

### 需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

### 操作步骤：

#### 一、样本处理

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，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/酶标仪预热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：

试剂名称（ $\mu\text{L}$ ）	空白管	测定管
蒸馏水	20	-
上清液/血清	-	20
试剂一（预热）	140	140
试剂二	10	10
试剂三	20	20
试剂四	10	10



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

将上述试剂按顺序加入微量石英比色皿/96孔板中，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

#### A、使用微量石英比色皿测定的计算公式如下：

##### 1. 按样本蛋白浓度计算

单位的定义：37℃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。

$$\text{AAT (U/mg prot)} = \Delta A \div 0.001 \div (\text{Cpr} \times \text{V样}) \div \text{T} \times (\text{V反总} \div 1) = 5000 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

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℃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。

$$\text{AAT (U/g质量)} = \Delta A \div 0.001 \div (\text{V样} \div \text{V样总} \times \text{W}) \div \text{T} \times (\text{V反总} \div 1) = 5000 \times \Delta A \div \text{W}$$

##### 3. 按血清浓度计算

单位的定义：37℃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。

$$\text{AAT (U/mL血清)} = \Delta A \div 0.001 \div \text{V样} \div \text{T} \times (\text{V反总} \div 1) = 5000 \times \Delta A$$

Cpr: 上清液蛋白浓度，mg/mL；V样：加入反应体系中上清液体积，0.02mL；W：样本质量，g；V样总：提取液体积，1mL；T：反应时间，2min；V反总：反应总体积，0.2mL；1：每mL反应体系。

#### B、使用96孔板测定的计算公式如下：

##### 1. 按蛋白浓度计算

AAT活力单位定义：37℃中每mL反应体系下每毫克蛋白每分钟催化吸光值变化0.0005个单位为1U。

$$\text{AAT (U/mg prot)} = \Delta A \div 0.0005 \div (\text{Cpr} \times \text{V样}) \div \text{T} \times (\text{V反总} \div 1) = 10000 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

##### 2. 按样本质量计算

AAT活力单位定义：37℃中每mL反应体系下每克组织每分钟催化吸光值变化0.0005个单位为1U。

$$\text{AAT (U/g质量)} = \Delta A \div 0.0005 \div (\text{V样} \div \text{V样总} \times \text{W}) \div \text{T} \times (\text{V反总} \div 1) = 10000 \times \Delta A \div \text{W}$$

##### 3. 按血清浓度计算

单位的定义：37℃中每mL反应体系下每mL血清每分钟催化吸光值变化0.0005个单位为1U。

$$\text{AAT (U/mL血清)} = \Delta A \div 0.0005 \div \text{V样} \div \text{T} \times (\text{V反总} \div 1) = 10000 \times \Delta A$$

Cpr: 上清液蛋白浓度，mg/mL，蛋白质浓度需要另外测定；V样：加入反应体系中上清液体积，0.02mL；W：样本质量，g；V样总：提取液体积，1mL；T：反应时间，2min；V反总：反应总体积，0.2mL；1：每mL反应体系。

### 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. 建议一个一个样本测定，一人比色一人计时。
4. 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