

磷酸转乙酰酶（PTA）活性检测试剂盒（微量法）

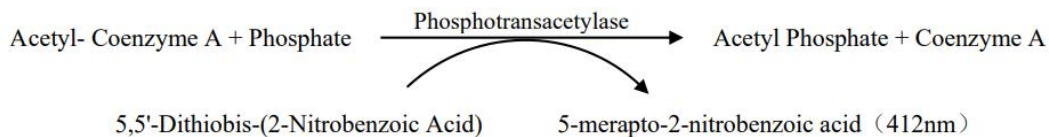
产品货号：BA2173

产品规格：100T/48S

产品简介：

磷酸转乙酰酶（Phosphotransacetylase, PTA, EC 2.3.1.8）是与乙酸代谢相关的关键酶之一，乙酸在乙酸激酶和磷酸转乙酰酶的作用下生成乙酰辅酶A，以此来连接糖类、脂肪、蛋白质三大营养物质的代谢通路-三羧酸循环和氧化磷酸化。

PTA催化乙酰辅酶A和无机磷反应生成辅酶A和乙酰磷酸，该反应促使DTNB转变成黄色的TNB，其在412nm处有特征吸收峰。



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60mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体15mL×1瓶	2-8℃
试剂二	液体1.2mL×1瓶	2-8℃
试剂三	液体1.3mL×1瓶	2-8℃
试剂四	粉剂×2支	-20℃

溶液的配制：

1. 试剂四：临用前取1支试剂四，加入0.6mL蒸馏水充分溶解，未用完的试剂-20℃分装保存2周，避免反复冻融（1支试剂四溶解后可做60S，为了延长试剂盒使用时间，此产品多给1支粉剂）。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、分析天平、低温离心机、水浴锅、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、可调节移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、冰、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）

1. 组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为1：5~10的比例（建议称取约0.1g组织，加入1mL提取液）进行冰浴匀浆。12000rpm，4℃离心10min，取上清置于冰上待测。
2. 细菌/细胞：按照细菌/细胞数量（10⁴个）：提取液体积（mL）为500~1000：1的比例（建议500万细菌/细胞加入1mL提取液），冰浴超声波破碎（功率200W，超声3秒，间隔7秒，总时间5min）；然后12000rpm，4℃离心10min，取上清置于冰上待测。

二、测定步骤

1. 可见分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至412nm，分光光度计蒸馏水调零。
2. 试剂一于25℃预热10min左右。
3. 操作表：

试剂名称（μL）	测定管	对照管
试剂一	120	130
试剂二	10	10
试剂三	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

样本	50	50
试剂四	10	-

将上述试剂按顺序加入微量玻璃比色皿/96孔板中，充分吸打混匀，记录412nm波长下15秒时的初始吸光度A1，比色后迅速将比色皿连同反应液一起放入25℃水浴准确反应2分钟（若酶标仪带有控温功能，将温度调至25℃）；迅速取出比色皿并擦干，记录412nm波长下2分15秒时的吸光度A2，并计算 ΔA 测定=A2测定-A1测定， ΔA 对照=A2对照-A1对照， $\Delta A = \Delta A$ 测定- ΔA 对照。每个测定管需设置一个对照管。

三、磷酸转乙酰酶（PTA）活性计算

1. 使用微量玻璃比色皿测定：

(1) 按样本蛋白浓度计算

单位的定义：25℃下每mg组织蛋白在反应体系中每分钟催化产生1nmol TNB 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PTA 活性 (U/mg prot)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样本}}) \div T = 147.059 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

(2) 按样本质量计算

单位的定义：25℃下每g组织在反应体系中每分钟催化产生1nmol TNB 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PTA 活性 (U/g 质量)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{提取}}) \div T = 147.059 \times \Delta A \div W$$

(3) 按细菌/细胞计算

单位的定义：25℃下每 10^6 个细菌/细胞在反应体系中每分钟催化产生1nmol TNB 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PTA 活性 (U}/10^6 \text{ cell)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (N \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{提取}}) \div T = 147.059 \times \Delta A \div N$$

ϵ : TNB 摩尔消光系数, $13.6 \times 10^3 \text{ mL}/(\text{nmol} \cdot \text{cm})$; d : 比色皿光径, 1cm; $V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, 0.2mL; $V_{\text{样本}}$: 反应体系中加入的样本体积, 0.05mL; $V_{\text{提取}}$: 加入提取液的体积, 1mL; T : 反应时间, 2min; C_{pr} : 样本蛋白浓度, mg/mL; W : 样本质量, g; N : 细菌或细胞总数, 以 10^6 计。

2. 使用96孔板测定：

将上述公式中的 $d=1\text{cm}$ 改为 $d=0.6\text{cm}$ （96孔板光径）进行计算即可。

注意事项：

1. 测定过程中样本和所有试剂在冰上放置，以免变性和失效。
2. 最好两个人同时做此实验，一个人比色，一个人计时，以保证实验结果的准确性。
3. 样本较多时，可根据样本数量按操作表配制工作液（试剂一、二、三），因通过单位时间内吸光值变化计算酶活，不推荐同时测多个样本。
4. 如果样本 ΔA 过低，可适当加大样本量后重新测定；如果样本 ΔA 大于0.6（微量比色皿）或者0.4（96孔板），建议将样本用提取液适当稀释后进行测定。注意同步修改计算公式。



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