

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°C |
| 试剂一 | 液体10mL×1瓶 | 液体25mL×1瓶 | 液体50mL×1瓶 | 4°C |
| 试剂二 | 粉剂×1支 | 粉剂×1瓶 | 粉剂×1瓶 | -20°C |
| 试剂三 | 液体1mL×1支 | 液体2.5mL×1瓶 | 液体5mL×1瓶 | 4°C |
| 试剂四 | 粉剂×1支 | 粉剂×1瓶 | 粉剂×1瓶 | 4°C |

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°C保存；
3. 试剂四：临用前加入试剂一0.6mL充分溶解，4°C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°C保存。
3. 试剂四：临用前加入试剂一1.3mL充分溶解，4°C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°C保存。
3. 试剂四：临用前加入试剂一2.6mL充分溶解，4°C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°C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。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

- 试剂一在37°C水浴保温20min以上。
- 样本测定：

| 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 $\Delta A_{\text{空}}=A2_{\text{空}}-A1_{\text{空}}$ 、 $\Delta A_{\text{测}}=A2_{\text{测}}-A1_{\text{测}}$ 、 $\Delta A=\Delta A_{\text{测}}-\Delta A_{\text{空}}$ 。

三、AAT活性计算

- 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。

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

此法需要自行测定样本蛋白质浓度。

- 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。

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

- 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。

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

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:

- 上清液蛋白质含量需要另外测定。
- 当吸光值大于1时，建议稀释后测量。
- 如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 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

上海尚宝生物科技有限公司
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com