

## 磷酸转乙酰酶（PTA）活性检测试剂盒（微量法）

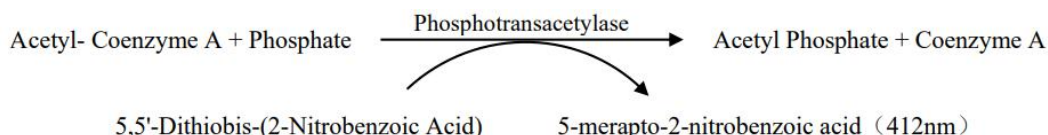
产品货号：BA2173

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（10<sup>4</sup>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



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

试剂三	10	10
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°C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°C)；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 $\Delta A$  测定=A2测定-A1测定， $\Delta A$  对照=A2对照-A1对照， $\Delta A = \Delta A$  测定- $\Delta A$  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°C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。

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

##### (2) 按样本质量计算

单位的定义：25°C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。

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

##### (3) 按细菌/细胞计算

单位的定义：25°C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。

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

$\epsilon$ : 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;  $V_{\text{反应}}$ : 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;  $C_{\text{pr}}$ : 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 $\Delta A$  过低，可适当加大样本量后重新测定；如果样本 $\Delta A$  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

**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