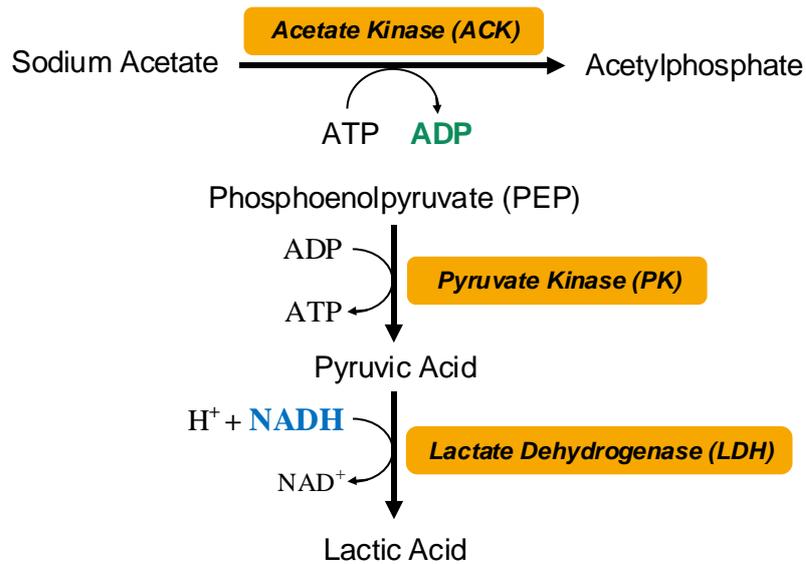




乙酸激酶 (ACK) 活性检测试剂盒  
Acetate Kinase (ACK) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司  
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



## 乙酸激酶 (ACK) 活性检测试剂盒

### Acetate Kinase (ACK) Activity Assay Kit

#### 一、产品描述

乙酸激酶 (ACK) 广泛存在于生物体内, 可催化乙酸和 ATP 生成乙酰磷酸和 ADP, 是细菌碳代谢和能量代谢过程中的关键酶, 并且可通过反应的中间体乙酰磷酸调控体内其他生物反应, 在生物体内具有举足轻重的作用。

乙酸激酶能够催化乙酸钠和 ATP 生成乙酰磷酸和 ADP, 丙酮酸激酶催化 ADP 和 PEP 生成 ATP 和丙酮酸, 乳酸脱氢酶进一步催化丙酮酸和 NADH 生成乳酸和 NAD<sup>+</sup>, NADH 在 340 nm 处具有特征吸收峰, 通过吸光值的变化速率即可表征乙酸激酶的活性。

#### 二、产品内容

名称		试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	组分 A	液体 100 mL×1 瓶	4°C 保存	使用前将组分 B 加入组分 A 中充分溶解
	组分 B	粉剂×1 支	4°C 保存	
试剂一		液体 15 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二		粉剂×1 支	4°C 保存	使用前加入 1 mL 蒸馏水充分溶解
试剂三		粉剂×2 支	-20°C 保存	使用前每支加入 1 mL 蒸馏水充分溶解 (未使用试剂-20°C 保存, 避免反复冻融)
试剂四		粉剂×1 瓶	-20°C 保存	使用前加入 2 mL 蒸馏水充分溶解 (未使用试剂-20°C 保存, 避免反复冻融)
试剂五		粉剂×1 支	-20°C 保存	使用前加入 500 μL 蒸馏水充分溶解 (未使用试剂-20°C 保存, 避免反复冻融)
试剂六		液体×1 瓶	4°C 保存	按试剂六:蒸馏水=43:457 的体积比配制 (根据使用量现用现配)
试剂七		液体×1 瓶	-20°C 保存	按试剂七:蒸馏水=1:9 的体积比配制 (根据使用量现用现配)
试剂八		粉剂×1 瓶	4°C 保存	使用前加入 5 mL 蒸馏水充分溶解
<b>ACK 工作液的制备 (现配现用):</b> 使用前根据用量按试剂二: 试剂三: 试剂四: 试剂五: 试剂六: 试剂七: 试剂八=6:20:13:4:4:4:20 的体积比例配制即为 <b>ACK 工作液</b> , 置于冰上放置。				

### 三、产品使用说明

**测定过程中所需要的仪器和试剂：**紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿（光径 10 mm）/96 孔 UV 板、研钵/匀浆器、台式离心机、可调式移液器/多道移液器、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

#### 1.粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

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 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，4℃ 15000 g 离心 20 min，取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量（ $10^4$  个）：提取液体积（mL）为（500-1000）：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率 20%，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次），4℃ 15000 g 离心 20 min，取上清置于冰上待测。

③血清（浆）、培养液等液体样本：直接检测或适当稀释后再进行检测。

#### 2.测定步骤

①紫外分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 340 nm，蒸馏水调零。

②试验前将试剂一 37℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）预热 15 min。

③在 96 孔 UV 板或微量石英比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 ( $\mu\text{L}$ )	空白组 ( $\mu\text{L}$ )
试剂一	110	110
ACK 工作液	70	70
粗酶液	20	-
蒸馏水	-	20

**吸光值测定：**①充分混匀并立即开始计时，测定 20 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A1 测定和 A1 空白；②37℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）准确反应 180 s，测定 200 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A2 测定和 A2 空白；③计算  $\Delta A$  测定=A1 测定-A2 测定， $\Delta A$  空白=A1 空白-A2 空白， $\Delta A = \Delta A$  测定- $\Delta A$  空白。注：空白组只需测定 1-2 次。

#### 3.乙酸激酶（ACK）活性计算

##### 3.1 使用 96 孔 UV 板测定的计算公式

①按组织蛋白含量计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ACK (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{1071.8 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

## ②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ACK (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\varepsilon \times d_1 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{1071.8 \times \Delta A}{W}$$

## ③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每  $10^4$  个细菌或细胞每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ACK (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\varepsilon \times d_1 \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{1071.8 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

## ④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ACK (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\varepsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times T} = 1071.8 \times \Delta A$$

### 3.2 使用微量石英比色皿测定的计算公式

将上述公式中 96 孔 UV 板光径 ( $d_1=0.5$  cm) 改为微量石英比色皿光径 ( $d_2=1$  cm) 进行计算即可。

**注释：** V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.02 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积， $2 \times 10^{-4}$  L； $\varepsilon$ ：NADH 摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3$  L/mol/cm； $d_1$ ：96 孔 UV 板光径，0.5 cm； $d_2$ ：微量石英比色皿光径，1 cm；T：反应时间，3 min；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计。

## 四、注意事项

- ①测定过程中粗酶液和所有试剂均需冰上放置，以免变性和失活；
- ②若  $\Delta A$  大于 1，建议将粗酶液适当稀释后再进行测定，计算时相应修改；
- ③准确在 20 s 和 200 s 处完成吸光值测定，以确保实验结果的准确性和重复性；若使用 96 孔 UV 板测定应使用多道移液器且分批进行检测，以确保组间反应时间一致；
- ④为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

**For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.**

