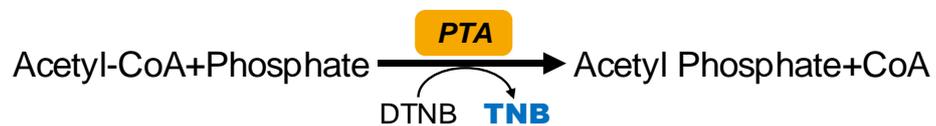




磷酸转乙酰酶 (PTA) 活性检测试剂盒
Phosphotransacetylase (PTA) Activity Assay Kit



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



磷酸转乙酰酶 (PTA) 活性检测试剂盒

Phosphotransacetylase (PTA) Activity Assay Kit

一、产品描述

磷酸转乙酰酶是乙酸代谢途径中的关键酶，可催化乙酸与乙酰磷酸之间的反应，并以此将糖类、脂肪、蛋白质三大营养物质代谢途径连接起来，通过调控磷酸转乙酰酶的活性或表达水平，可以改变乙酸代谢途径中的代谢流向，从而实现对产物的调控，在生物制造和生物能源等领域具有重要意义。

磷酸转乙酰酶可催化乙酰辅酶 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，产物在 412 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征磷酸转乙酰酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
提取液	液体 60 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 15 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	液体 1.2 mL×1 支	4°C 保存	-
试剂三	液体 1.3 mL×1 支	4°C 保存	-
试剂四	粉剂×2 支	-20°C 保存	使用前每支加入 600 μ L 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C可保存 2 周，避免反复冻融)

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿（光径 10 mm）/96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、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°C 12000 g 离心 10 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 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 5 min），4°C 12000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③培养液等液体样本：直接检测或适当稀释后再进行测定。

2.测定步骤

- ①分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 412 nm，蒸馏水调零。
- ②试验前将试剂一 25°C 预热 15 min 以上。
- ③在 96 孔板或微量玻璃比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	对照组 (μL)
试剂一	120	130
试剂二	10	10
试剂三	10	10
粗酶液	50	50
试剂四	10	-

吸光值测定：①充分混匀并立即开始计时，测定 15 s 时（总时间）412 nm 处吸光值，记为 A1 测定和 A1 对照；②25°C 准确反应 120 s，测定 135 s（总时间）时 412 nm 处吸光值，记为 A2 测定和 A2 对照；③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。注：每个样本均需设一个对照组。

3.磷酸转乙酰酶（PTA）活性计算

3.1 使用 96 孔板测定的计算公式

- ①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟生成 1 nmol TNB 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PTA (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}}}{\epsilon \times d_1 \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{294.12 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

- ②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟生成 1 nmol TNB 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PTA (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{\epsilon \times d_1 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{294.12 \times \Delta A}{W}$$

- 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生成 1 nmol TNB 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PTA (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{\epsilon \times d_1 \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{294.12 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟生成 1 nmol TNB 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PTA (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}}}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times T} = 294.12 \times \Delta A$$

3.2 使用微量玻璃比色皿测定的计算公式

将上述公式中 96 孔板光径 ($d_1=0.5$) 改为微量玻璃比色皿光径 ($d_2=1.0$) 进行计算即可。

注释： V 反总：反应体系总体积，0.2 mL；V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.05 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL； ϵ ：TNB 摩尔消光系数， 13.6×10^{-3} mL/nmol/cm； d_1 ：96 孔板光径，0.5 cm； d_2 ：微量玻璃比色皿光径，1 cm；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；T：反应时间，2 min。

四、注意事项

- ①测定过程中样本和所有试剂均须置于冰上放置，以免变性和失活；
- ②准确在相应时间点完成吸光值测定，以确保实验结果的准确性和重复性；若使用酶标仪需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；
- ③若 ΔA 大于 0.4，建议将粗酶液适当稀释后再进行测定；若 ΔA 小于 0.02，建议适当延长酶促反应时间（25°C 反应时间）或增加样本量后再进行测定，计算时相应修改；
- 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.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

