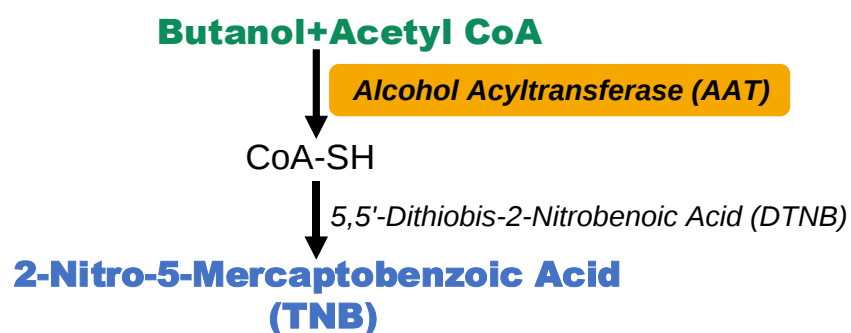




醇酰基转移酶 (AAT) 活性检测试剂盒

**Alcohol Acyltransferase (AAT) Activity Assay Kit**



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



## 醇酰基转移酶（AAT）活性检测试剂盒

## Alcohol Acyltransferase (AAT) Activity Assay Kit

## 一、产品描述

醇酰基转移酶（AAT）是酯类物质合成途径中最末端的关键酶，作为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，能够将酰基转移到醇类底物上进而形成酯类化合物，在基因表达、代谢和信号传导中具有重要作用。

醇酰基转移酶能够催化乙酰 CoA 转移乙酰基至丁醇，同时还原 DTNB 生成 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醇酰基转移酶的活性。

## 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 | 液体 30 mL×1 瓶 | 4°C 保存     | 内含不溶物，充分混匀后使用即可                           |
| 试剂一 | 液体 25 mL×1 瓶 | 4°C 保存     | -                                         |
| 试剂二 | 粉剂×1 支       | -20°C 避光保存 | 使用前加入 1.5 mL 蒸馏水充分溶解<br>(配制后 4°C 可保存 2 周) |
| 试剂三 | 液体 4 mL×1 瓶  | 4°C 避光保存   | -                                         |
| 试剂四 | 液体 2 mL×1 瓶  | 4°C 避光保存   | -                                         |

## 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、1 mL 玻璃比色皿（光径 10 mm、狭缝 3 mm、体积 1.05 mL）、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，取上清液置于冰上待测。

②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分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 412 nm，蒸馏水调零。

②试验前将试剂一置于 37°C 预热 20 min 以上。

③在 1 mL 玻璃比色皿中依次加入下列试剂：

| 试剂  | 测定组<br>( $\mu\text{L}$ ) | 空白组<br>( $\mu\text{L}$ ) |
|-----|--------------------------|--------------------------|
| 粗酶液 | 100                      | -                        |
| 蒸馏水 | -                        | 100                      |
| 试剂一 | 700                      | 700                      |
| 试剂二 | 50                       | 50                       |
| 试剂三 | 100                      | 100                      |
| 试剂四 | 50                       | 50                       |

**吸光值测定：**①充分混匀并立即开始计时，测定 10 s（总时间）时 412 nm 处吸光值，记为 A1 测定和 A1 空白；②37°C 恒温准确反应 120 s，测定 130 s（总时间）时 412 nm 处吸光值，记为 A2 测定和 A2 空白；③计算  $\Delta A_{\text{测定}} = A2_{\text{测定}} - A1_{\text{测定}}$ ； $\Delta A_{\text{空白}} = A2_{\text{空白}} - A1_{\text{空白}}$ ， $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。

注：空白组只需测定 1-2 次。

### 3. 醇酰基转移酶（AAT）活性计算

#### ①按组织蛋白浓度计算

单位定义：37°C 条件下，每 mL 反应体系中每 mg 组织蛋白每分钟催化吸光值变化 0.001 定义为一个酶活力单位。

$$\text{AAT (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}}}{0.001 \times C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{5000 \times \Delta A}{C_{\text{pr}}}$$

#### ②按组织样本质量计算

单位定义：37°C 条件下，每 mL 反应体系中每 g 组织每分钟催化吸光值变化 0.001 定义为一个酶活力单位。

$$\text{AAT (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{0.001 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{5000 \times \Delta A}{W}$$

#### ③按液体样本体积计算

单位定义：37°C 条件下，每 mL 反应体系中每 mL 液体样本每分钟催化吸光值变化 0.001 定义为一个酶活力单位。

$$\text{AAT (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}}}{0.001 \times V_{\text{样}} \times T} = 5000 \times \Delta A$$

**注释：**V 反总：反应体系总体积，1 mL；V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.1 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；T：酶促反应时间，2 min。

#### 四、注意事项

①提取液中含有蛋白沉淀组分，粗酶液不能直接用于蛋白浓度的测定，若需要使用蛋白浓度计算结果，建议使用 PBS 或生理盐水重新制备样本匀浆后再进行蛋白浓度测定；

②若 A2 测定或  $\Delta A$  测定大于 1.0，建议将粗酶液使用蒸馏水适当稀释后再进行测定；若  $\Delta A$  测定小于 0.05，建议适当延长酶促反应时间（37°C 恒温准确反应时间可延长至 10 min 以上）或增加样本量后再进行测定，计算时相应修改；

③准确在规定时间点完成吸光值测定，以保证实验结果的准确性和重复性；

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.

