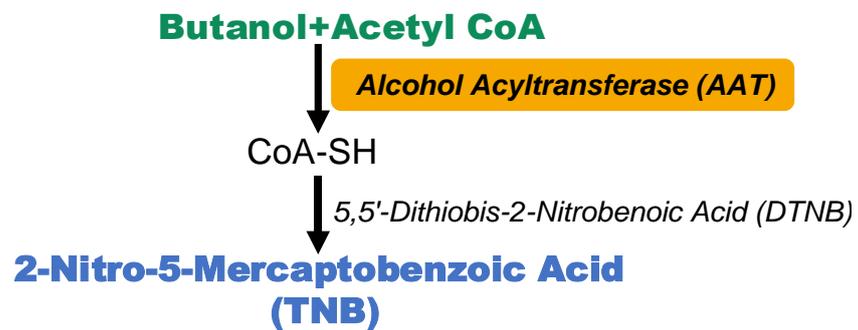




醇酰基转移酶 (AAT) 活性检测试剂盒
Alcohol Acyltransferase (AAT) Activity Assay Kit



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 60 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 50 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	粉剂×2 支	-20°C 避光保存	使用前加入 1.5 mL 蒸馏水充分溶解 (配制后 4°C 可保存 2 周)
试剂三	液体 7 mL×1 瓶	4°C 避光保存	-
试剂四	液体 4 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 (μL)	空白组 (μL)
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。

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

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 ΔA 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 ΔA 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.

