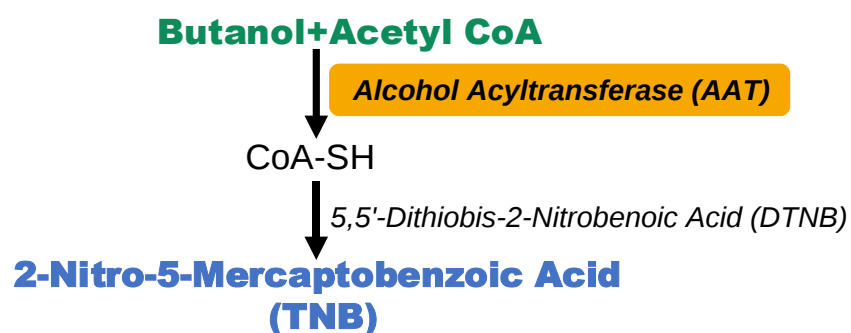




醇酰基转移酶（AAT）活性检测试剂盒

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 110 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 20 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 (配制后 4°C 可保存 2 周)
试剂三	液体 3 mL×1 瓶	4°C 避光保存	-
试剂四	液体 1.5 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：酶标仪、96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、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酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 412 nm。

②试验前将试剂一置于 37°C 预热 20 min 以上。

③在 96 孔板中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	空白组 (μL)
粗酶液	20	-
蒸馏水	-	20
试剂一	140	140
试剂二	10	10
试剂三	20	20
试剂四	10	10

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 ΔA 测定 = A2 测定 - A1 测定； ΔA 空白 = A2 空白 - A1 空白， $\Delta A = \Delta A$ 测定 - ΔA 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 0.0005 定义为一个酶活力单位。

$$\text{AAT (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}}}{0.0005 \times C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{10000 \times \Delta A}{C_{\text{pr}}}$$

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 0.0005 定义为一个酶活力单位。

$$\text{AAT (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{0.0005 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{10000 \times \Delta A}{W}$$

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 0.0005 定义为一个酶活力单位。

$$\text{AAT (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}}}{0.0005 \times V_{\text{样}} \times T} = 10000 \times \Delta A$$

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，0.02 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；样本较多时应使用多道移液器且分批进行测定，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.

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.

