

# 酰基转移酶（AAT）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1140

保存：-20℃避光保存 6 个月

规格：48T/96T

适用样本：血清（浆）、动植物组织、细胞、细菌

## 产品简介

AAT 是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，在基因表达、代谢和信号传导中具有重要作用。本试剂盒可检测生物体内 AAT 活性，其原理是：AAT 催化乙酰 CoA 转移乙酰基到丁醇，同时还原 DTNB 生成 TNB；TNB 在 412nm 有吸收峰，测定 412nm 吸光度增加速率，来计算 AAT 活性。

## 产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃ 保存
试剂一	10mL	20mL	4℃ 保存
试剂二	1	1	-20℃ 保存
试剂三	1	1	4℃ 避光保存

## 自备耗材

酶标仪或可见分光光度计（能测 412nm 处的吸光度）

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

恒温箱、制冰机、低温离心机

无水乙醇

匀浆器（如果是组织样本）

## 试剂准备

提取液：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 保存。

试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 保存。

试剂二：临用前 96T 加入 18mL 试剂一，48T 加入 9mL 试剂一，充分混匀待用。用不完的试剂分装后-20℃ 保存，禁止反复冻融。

试剂三：临用前 96T 加入无水乙醇 1mL，48T 加入无水乙醇 0.5mL，充分溶解待用，用不完的试剂 4℃ 保存。

工作液的配制：每孔配制 190μL 工作液：吸取 180μL 溶解后的试剂二，10μL 试剂三。工作液需现配现用，根据需要测定的样本数按比例配制。

## 样本制备

动物组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆，8,000g，4℃ 离心 10min，取上清液，置冰上待测。

植物组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液捣碎，冰浴超声波破碎细胞 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），然后 8,000g，4℃ 离心 10min，取上清液，置冰上待测。

细胞或细菌：收集 500 万细胞或细菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞或细菌，离心后弃上清，加入 1mL 提取液，冰浴超声波破碎细胞 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），然后 8,000g，4℃ 离心 10min，取上清液，置冰上待测。

血清（浆）等液体样本：直接测定。

## 产品说明书

**注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存1个月。处理好的样本须当天检测。对于脂肪含量较高的动物组织，离心后移除上层脂肪，再取上清液。如需测定蛋白浓度，推荐使用BCA法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。**

### 实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热30min以上，调节波长到412nm，可见分光光度计去离子水调零。
2. 恒温箱预热到37℃，工作液置于恒温箱中预热15min。
3. 在96孔板或微量玻璃比色皿中依次加入10μL样本或提取液，190μL工作液，迅速混匀，37℃孵育2min，测定412nm处吸光值。样本的吸光值为 $A_{测}$ ，提取液的吸光值为 $A_{空}$ ，计算 $\Delta A_{测}=A_{测}-A_{空}$ 。

**注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果 $\Delta A$ 小于0.001可适当加大样本量。如果 $\Delta A$ 大于1.5，样本可用提取液进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。**

### 结果计算

#### A. 使用96孔板测定的计算公式

##### 1. 按照蛋白浓度计算

活性单位定义：每mg蛋白每分钟催化产生1nmol TNB的酶量为1个酶活单位。

$$\text{AAT 酶活 (U/mg prot)} = (\Delta A_{测} \div \epsilon \div d \times V_{反应} \times 10^9) \div (Cpr \times V_{样}) \div T \times n = 1470.6 \times \Delta A_{测} \div Cpr \times n$$

##### 2. 按照样本质量计算

活性单位定义：每g组织每分钟催化产生1nmol TNB的酶量为1个酶活单位。

$$\text{AAT 酶活 (U/g 鲜重)} = (\Delta A_{测} \div \epsilon \div d \times V_{反应} \times 10^9) \div (W \times V_{样} \div V_{样总}) \div T \times n = 1470.6 \times \Delta A_{测} \div W \times n$$

##### 3. 按细胞数量计算

活性单位定义：每 $10^4$ 个细胞每分钟催化产生1nmol TNB的酶量为1个酶活单位。

$$\text{AAT 酶活 (U/10}^4 \text{ cells)} = (\Delta A_{测} \div \epsilon \div d \times V_{反应} \times 10^9) \div (\text{细胞数量} \times V_{样} \div V_{样总}) \div T \times n = 1470.6 \times \Delta A_{测} \div 500 \times n = 2.9412 \times \Delta A_{测} \times n$$

##### 4. 按液体体积计算

活性单位定义：每mL样本每分钟催化产生1nmol TNB的酶量为1个酶活单位。

$$\text{AAT 酶活 (U/mL)} = (\Delta A_{测} \div \epsilon \div d \times V_{反应} \times 10^9) \div V_{样} \div T \times n = 1470.6 \times \Delta A_{测} \times n$$

$\epsilon$ ：TNB摩尔消光系数， $13.6 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$ ； $d$ ：96孔板光径，0.5cm； $V_{反应}$ ：反应体系总体积，L， $200 \mu\text{L} = 2 \times 10^{-4} \text{ L}$ ； $10^9$ ： $1 \text{ mol} = 1 \times 10^9 \text{ nmol}$ ； $Cpr$ ：蛋白浓度，mg/mL； $V_{样}$ ：加入上清液体积，0.01mL； $T$ ：反应时间，2min； $n$ ：样本稀释倍数； $W$ ：样品质量，g； $V_{样总}$ ：提取液体积，1mL；500：细胞总数，500万。

#### B. 使用微量玻璃比色皿测定的计算公式

将上述计算公式中的光径 $d:0.5 \text{ cm}$ 调整为 $d:1 \text{ cm}$ 进行计算即可。

### 注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

### 相关产品：

- PMK1019 脂肪酸合成酶 (FAS) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1142 甘油三酯 (TG) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1143 总胆固醇 (TC) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1144 游离胆固醇 (FC) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1137 游离脂肪酸 (FFA) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1151 高密度脂蛋白 (HDL-C) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1152 低密度脂蛋白 (LDL-C) 检测试剂盒 (微量法)



更多产品详情了解，请关注公众号：