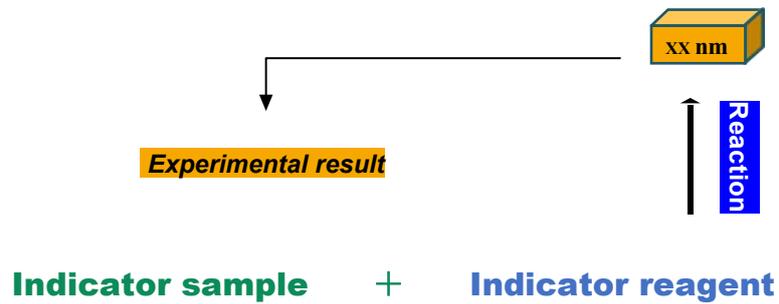


上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co.,Ltd.



生化检测原理示意图

酰基转移酶（AAT）检测试剂盒说明书

可见分光光度法

正式测定前务必取2-3个预期差异较大的样本做预测定

产品内容：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 25 mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂一	液体 25 mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂二	粉剂×1 支	-20℃保存	临用前加蒸馏水 1.5 mL 充分溶解，4℃保存
试剂三	液体 2.5 mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂四	粉剂×1 瓶	4℃避光保存	临用前加入试剂一 1.3mL 充分溶解，4℃避光保存

产品说明：

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。

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412 nm吸光度增加速率，来计算AAT活性。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、研钵、冰和蒸馏水

操作步骤：

一、样本的前处理：

组织样品：称取约0.1g样品，加提取液1mL，冰上充分研磨，15000g 4℃离心20min，取上清液待测。

血清（浆）：直接检测。

二、测定步骤：

- 1、分光光度计预热30min 以上，调节波长至412nm，蒸馏水调零。
- 2、试剂一在37℃水浴保温30 min以上。

3、 样本测定

试剂名称 (μL)	空白管	测定管
蒸馏水	100	-
上清液	-	100
试剂一 (预热)	700	700
试剂二	50	50
试剂三	100	100
试剂四	50	50

将上述试剂按顺序加入1 mL 玻璃比色皿中，加试剂四的同时开始计时，在412nm 波长下记录10s时的初始吸光度A1 和130s后的吸光值A2，计算 $\Delta A_{空} = A2_{空} - A1_{空}$ ； $\Delta A_{测} = A2_{测} - A1_{测}$ ， $\Delta A = \Delta A_{测} - \Delta A_{空}$ 。

注：如果 $\Delta A_{测}$ 偏低，可以延长反应时间，如测定10 s和310 s的吸光度，相应修改计算公式中反应时间。

三、AAT活性计算：

(1) 按样本蛋白浓度计算：

单位的定义：37°C中每mL反应体系下每毫克蛋白每分钟催化吸光值变化0.001个单位为1U。。

$$AAT (U/mg \text{ prot}) = 1000 \times \Delta A \div (C_{pr} \times V_{样}) \div T = 5000 \times \Delta A \div C_{pr};$$

此法需要自行测定样本蛋白质浓度。

(2) 按样本鲜重计算：

单位的定义：37°C中每mL反应体系下每克组织每分钟催化吸光值变化0.001个单位为1U。

$$AAT (U/g \text{ 鲜重}) = 1000 \times \Delta A \div (V_{样} \div V_{样总} \times W) \div T = 5000 \times \Delta A \div W$$

(3) 按血清（浆）体积计算：

单位的定义：37°C中每mL反应体系下每mL血清（浆）每分钟催化吸光值变化0.001个单位为1U。

$$AAT (U/mL) = 1000 \times \Delta A \div V_{样} \div T = 5000 \times \Delta A.$$

C_{pr} : 上清液蛋白浓度, mg/mL; $V_{样}$: 加入反应体系中上清液体积, 0.1mL; W : 样品质量, g; $V_{样总}$: 提取液体积, 1 mL; T : 反应时间, 2min。

注意事项：

1. 上清液蛋白质含量需要另外测定。建议使用本公司 BCA 蛋白质含量测定试剂盒（货号：ZC-S0470）
2. 当吸光值大于1时，建议稀释后测量。