

Alkyl Acyl Transferase Activity Assay Kit

醇酰基转移酶 (AAT) 活性说明书

货号:BN72175 | 方法: 可见分光法 | 规格: 24 样

一、产品简介:

醇酰基转移酶 (AAT, EC 2.3.1.84) 是酯类化合物生物合成过程中的关键酶, 研究表明该酶活性与果实中酯类化合物的含量呈正相关。

醇酰基转移酶 (AAT) 催化乙酰 CoA 和醇类化合物生成酯类化合物和 CoA, 生成的 CoA 具有还原性并可与 DTNB 作用生成黄色物质, 该有色物质在 412nm 处有特征吸收峰, 即可得出 MS 酶活性大小。

二、试剂盒组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 30mL×1 瓶	4°C 保存	
试剂一	液体 13mL×1 瓶	4°C 保存	
试剂二	液体 mL×1 支	4°C 保存	临用前取出 70μL 的试剂二至新 EP 管中, 再加入 1.2mL 蒸馏水混匀备用。
试剂三	液体 1mL×1 支	4°C 保存	若凝固, 可于 25°C 水浴片刻至全部融解后使用。
试剂四	粉剂 mg×1 支	4°C 保存	临用前甩几下使粉剂落入底部, 再加入 0.6mL 蒸馏水溶解, 可分装保存, 尽量避免反复冻融。
标准品	粉剂 mg×1 支	4°C 保存	若重新做标曲, 则用到该试剂。

三、所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm)、低温离心机、水浴锅、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水

四、醇酰基转移酶 (AAT) 活性测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品和实验流程, 避免样本和试剂浪费!

1、样本制备:

① 组织样本: 称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆。12000rpm 4°C 离心 15min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照组织质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例提取

② 细菌/细胞样本: 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 取约 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液, 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 20% 或 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 12000rpm 4°C 离心 15min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照细菌/细胞数量 (10^4): 提取液 (mL) 为 500~1000: 1 的比例进行提取。

③ 液体样本: 直接检测; 若浑浊, 离心后取上清检测。

2、上机检测:

① 可见分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 412nm, 蒸馏水调零。

② 所有试剂解冻至室温 (25°C), 在 1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm) 中依次加入:

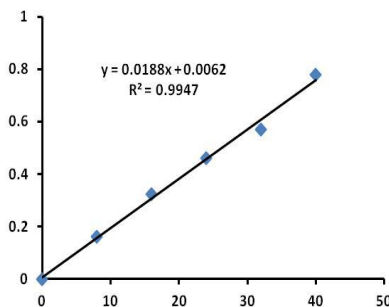
试剂名称 (μL)	测定管
样本	200
试剂一	500
试剂二	40
试剂三	40

混匀，30℃条件下孵育 10min，立即于 412nm 处读取吸光值 A1，	
试剂四	20
混匀，30℃条件下反应 15min，立即于 412nm 处读取吸光值 A2， $\Delta A = A2 - A1$ 。	

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；
针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、标准曲线方程： $y = 0.0188x + 0.0062$ ，x 是标准品质量： μg ，y 是 ΔA 。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

2、按样本蛋白浓度计算：

酶活定义：每毫克组织蛋白每分钟催化产生 1nmol 辅酶 A 定义为一个酶活力单位。

$$\text{AAT}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mg prot}) = [(\Delta A - 0.0062) \div 0.0188] \div (V1 \times \text{Cpr}) \div T \div \text{Mr} \times 10^3 = 23.1 \times (\Delta A - 0.0062) \div \text{Cpr}$$

3、按样本鲜重计算：

酶活定义：每克组织每分钟催化产生 1nmol 辅酶 A 定义为一个酶活力单位。

$$\text{AAT}(\text{nmol}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = [(\Delta A - 0.0062) \div 0.0188] \div (W \times V1 \div V) \div T \div \text{Mr} \times 10^3 = 23.1 \times (\Delta A - 0.0062) \div W$$

4 按细菌或细胞密度计算：

酶活定义：每 1 万个细菌或细胞每分钟催化产生 1 nmol 辅酶 A 定义为一个酶活力单位。

$$\text{AAT}(\text{nmol}/\text{min}/10^4 \text{ cell}) = [(\Delta A - 0.0062) \div 0.0188] \div (500 \times V1 \div V) \div T \div \text{Mr} \times 10^3 = 0.046 \times (\Delta A - 0.0062)$$

5、按照液体体积计算：

酶活定义：每毫升液体样本每分钟催化产生 1 nmol 辅酶 A 定义为一个酶活力单位。

$$\text{AAT}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mL}) = [(\Delta A - 0.0062) \div 0.0188] \div V1 \div T \div \text{Mr} \times 10^3 = 23.1 \times (\Delta A - 0.0062)$$

V1---加入样本体积，0.2mL； V---加入提取液体积，1mL； T---反应时间，15min；

W---样本质量，g； CoA---Mr 分子量，767.5； 500---细胞或细菌总数，万；

Cpr---样本蛋白质浓度，mg/mL；建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。