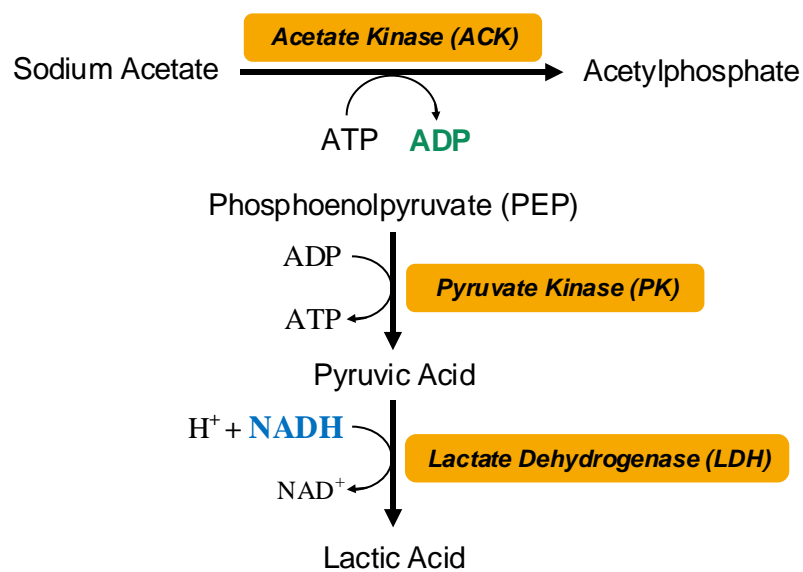




乙酸激酶 (ACK) 活性检测试剂盒
Acetate Kinase (ACK) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



乙酸激酶 (ACK) 活性检测试剂盒

Acetate Kinase (ACK) Activity Assay Kit

一、产品描述

乙酸激酶 (ACK) 广泛存在于生物体内, 可催化乙酸和 ATP 生成乙酰磷酸和 ADP, 是细菌碳代谢和能量代谢过程中的关键酶, 并且可通过反应的中间体乙酰磷酸调控体内其他生物反应, 在生物体内具有举足轻重的作用。

乙酸激酶能够催化乙酸钠和 ATP 生成乙酰磷酸和 ADP, 丙酮酸激酶催化 ADP 和 PEP 生成 ATP 和丙酮酸, 乳酸脱氢酶进一步催化丙酮酸和 NADH 生成乳酸和 NAD⁺, NADH 在 340 nm 处具有特征吸收峰, 通过吸光值的变化速率即可表征乙酸激酶的活性。

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	组分 A	液体 60 mL×1 瓶	4°C 保存	使用前将组分 B 加入组分 A 中充分溶解
	组分 B	粉剂×1 支	4°C 保存	
试剂一		液体 33 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二		液体 2 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂三		粉剂×1 瓶	-20°C 保存	使用前每瓶加入 6 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C可保存 1 个月, 避免反复冻融)
试剂四		粉剂×1 瓶	-20°C 保存	使用前每瓶加入 4 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C可保存 1 个月, 避免反复冻融)
试剂五		粉剂×1 支	-20°C 保存	使用前加入 1.2 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C可保存 1 个月, 避免反复冻融)
试剂六		液体 120 μL×1 支	4°C 保存	按试剂六:蒸馏水=18:191 的体积比配制 (根据使用量现用现配)
试剂七		液体 135 μL×1 支	-20°C 保存	按试剂七:蒸馏水=1:9 的体积比配制 (根据使用量现用现配)
试剂八		液体 6 mL×1 瓶	4°C 保存	-
ACK 工作液的制备 (现配现用): 使用前根据用量按试剂二: 试剂三: 试剂四: 试剂五: 试剂六: 试剂七: 试剂八=6:20:13:4:4:4:20 的体积比例配制即为 ACK 工作液 , 置于冰上放置。				

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：紫外分光光度计、1 mL 石英比色皿（光径 10 mm）、研钵/匀浆器、台式离心机、可调式移液器、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 15000 g 离心 20 min，取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量（ 10^4 个）：提取液体积（mL）为（500-1000）：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率 20%，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次），4°C 15000 g 离心 20 min，取上清置于冰上待测。

③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紫外分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 340 nm，蒸馏水调零。

②试验前将试剂一 37°C（哺乳动物）或 25°C（其它物种）预热 15 min。

③在 1 mL 石英比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	空白组 (μL)
试剂一	550	550
ACK 工作液	350	350
蒸馏水	-	100
粗酶液	100	-

吸光值测定：①充分混匀并立即开始计时，测定 20 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A1 测定和 A1 空白；②37°C（哺乳动物）或 25°C（其它物种）准确反应 180 s，测定 200 s（总时间）时 340 nm 处吸光值，记为 A2 测定和 A2 空白；③计算 ΔA 测定 = A1 测定 - A2 测定， ΔA 空白 = A1 空白 - A2 空白， $\Delta A = \Delta A$ 测定 - ΔA 空白。注：空白组只需测定 1-2 次。

3.乙酸激酶（ACK）活性计算

①按组织蛋白含量计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ACK (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{536 \times \Delta A}{C_{\text{pr}}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ACK (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\varepsilon \times d \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{536 \times \Delta A}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ACK (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\varepsilon \times d \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{536 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ACK (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\varepsilon \times d \times V_{\text{样}} \times T} = 536 \times \Delta A$$

注释： 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；V 反总：反应体系总体积， 1×10^{-3} L； ε ：NADH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm；d：1 mL 石英比色皿光径，1 cm；T：反应时间，3 min；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计。

四、注意事项

- ①测定过程中粗酶液和所有试剂均需冰上放置，以免变性和失活；
- ②若 ΔA 大于 1，建议将粗酶液适当稀释后再进行测定，计算时相应修改；
- ③准确在 20 s 和 200 s 处完成吸光值测定，以确保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.

