

乙酸激酶（ACK）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1217

保存：-20℃避光保存 6 个月

规格：48T/96T

适用样本：动植物组织、细胞、细菌、真菌、血清（浆）等液体样本

产品简介

乙酸激酶(Acetate kinase)是在乙酸生成过程中的关键酶，它控制着乙酸的最终生成，广泛存在于各类生物体内。ACK 催化乙酰磷酸和 ADP 生成乙酸和 ATP 的可逆反应，在生物体的碳源代谢和能量代谢中发挥着重要的作用，尤其是在古细菌甲烷合成代谢中起着中枢作用。本试剂盒提供了一种简单、方便、快速的 ACK 活性检测方法，其原理是：ACK 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，乳酸脱氢酶催化丙酮酸和 NADH 生成乳酸和 NAD⁺。NADH 在 340nm 处有特征吸收峰，而 NAD⁺没有，在 340nm 下测定 NADH 生成 NAD⁺速率，即可反映 ACK 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	15mL	30mL	4℃ 保存
试剂二	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	-20℃ 保存
试剂三	0.25mL	0.5mL	-20℃ 保存

自备耗材

酶标仪或紫外分光光度计（能测 340nm 处的吸光度）
96 孔 UV 微孔板或微量石英比色皿、可调节式移液枪及枪头
水浴锅、制冰机，低温离心机
去离子水
匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

注意：各组分（小管试剂）开盖前，请先低速离心。

提取液：即用型；4℃ 保存。

工作液：临用前取试剂二 1 瓶，加入 10mL 试剂一和 200 μL 试剂三，充分混合溶解待用；现配现用。未用完的试剂分装-20℃ 保存，避免反复冻融。

样本制备

动植物组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆，15,000g，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 15,000g，4℃ 离心 10min，取上清液，置冰上待测。

血清、血浆或其它生物学液体：可直接用来检测，或者如果有必要，建议将样本根据预实验结果用提取液稀释后再进行检测。

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。如需测定蛋白浓度，推荐使用 Bradford 蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

1. 酶标仪或紫外分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 340nm。紫外分光光度计去离子水调零。
2. 工作液置于 37℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）水浴 10min
3. 样本测定：在 96 孔 UV 板或微量石英比色皿中加入 20 μL 样本和 180 μL 工作液，混匀，立即记录 340nm 处 20s 时的吸光值 A_1 和 3min20s 后的吸光值 A_2 ，计算 $\Delta A = A_1 - A_2$ 。

注意：1. 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 ΔA 小于 0.001 可适当加大样本量或延长反应时间测量，注意计算公式中调整样品质量或时间；如果 ΔA 大于 1，可用提取液稀释样品，计算时结果乘以稀释倍数。

2. 测定反应的温度对测定结果有影响，请控制在 25℃（一般物种）或者 37℃（哺乳动物）。
3. 因通过反应速率计算酶活，使用 96 孔 UV 板时请根据操作速度控制一次测定的样本数（通常一次测定 4-8 个样本）。

结果计算

A. 使用 96 孔板测定的计算公式

1) 按样本鲜重计算：

单位的定义：每 g 组织在反应体系中每分钟消耗 1nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$ACK(U/g \text{ 鲜重}) = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 1072 \times \Delta A \div W$$

2) 按细菌或细胞密度计算：

单位的定义：每 1 万个细菌或细胞在反应体系中每分钟消耗 1nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$ACK(U/10^4 \text{ cell}) = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 2.144 \times \Delta A$$

3) 按液体样本体积计算：

单位的定义：每 mL 液体样本在反应体系中每分钟消耗 1nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$ACK(U/mL) = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 1072 \times \Delta A$$

4) 按样本蛋白浓度计算：

单位的定义：每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟消耗 1nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$ACK(U/mg \text{ prot}) = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 1072 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积， 2×10^{-4} L； ϵ ：NADH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 L/mol /cm； d ：96 孔板光径，0.5cm； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.02 mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1 mL； T ：反应时间，3 min； C_{pr} ：样本蛋白质浓度，mg/mL； W ：样本质量，g；500：细菌或细胞总数，500 万。

B. 使用微量石英比色皿测定的计算公式

将上述计算公式中的光径 d :0.5cm 调整为 d :1cm 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：

PMK1000 NAD 激酶（NADK）检测试剂盒（微量法）

PMK1120 己糖激酶（HK）检测试剂盒（微量法）

PMK1121 丙酮酸激酶（PK）检测试剂盒（微量法）

PMK1122 磷酸果糖激酶（PFK）/6-磷酸果糖激酶/果糖-6-磷酸激酶检测试剂盒

PMK1228 莽草酸脱氢酶（SD）检测试剂盒（微量法）

PMK1216 异柠檬酸裂解酶（ICL）检测试剂盒（微量法）

更多产品详情了解，请关注公众号：

