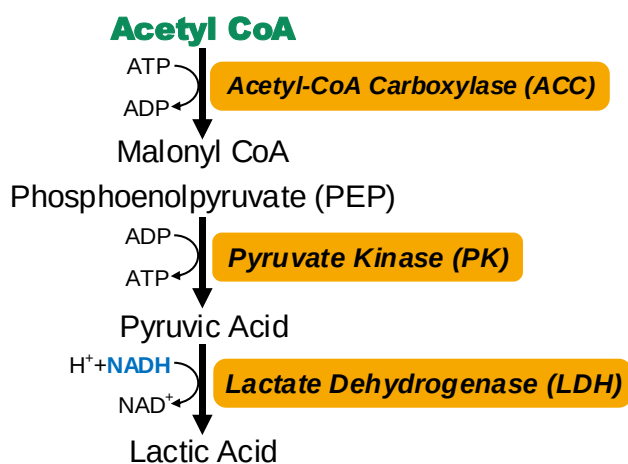




乙酰辅酶 A 羧化酶 (ACC) 活性检测试剂盒
Acetyl-CoA Carboxylase (ACC) Activity Assay Kit



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



乙酰辅酶 A 羧化酶 (ACC) 活性检测试剂盒

Acetyl-CoA Carboxylase (ACC) Activity Assay Kit

一、产品描述

乙酰辅酶 A 羧化酶 (ACC) 可催化乙酰辅酶 A 羧化生成丙二酰辅酶 A, 为脂肪酸和许多代谢产物的合成提供底物, 是脂肪酸生物合成的关键酶和限速酶, 是碳水化合物转化为脂肪酸的重要调控位点, 在微生物生长和脂肪酸合成代谢过程中发挥着重要作用。

乙酰辅酶 A 羧化酶能够催化乙酰辅酶 A、 NaHCO_3 和 ATP 生成丙二酰辅酶 A、ADP 和无机磷, 丙酮酸激酶和乳酸脱氢酶进一步催化 NADH 生成 NAD^+ , NADH 在 340 nm 处具有特征吸收峰, 通过吸光值变化即可表征乙酰辅酶 A 羧化酶的活性。

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 A		液体 60 mL×1 瓶	4°C 保存	按提取液 A:提取液 B=990:10 的体积比配制 (即为提取应用液, 根据使用量现用现配)
提取液 B		液体 1 mL×1 支	-20°C 避光保存	
试剂一	组分 A	液体 15 mL×1 瓶	4°C 保存	使用前将组分 A 加入组分 B 中充分溶解 (分装后-20°C 可保存 1 个月, 避免反复冻融)
	组分 B	粉剂×1 瓶	-20°C 保存	
试剂二		粉剂×1 瓶	-20°C 避光保存	使用前加入 12 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)
试剂三		液体 50 μL ×1 支	4°C 保存	-
试剂四		液体 180 μL ×1 支	4°C 保存	-
试剂五		粉剂×1 瓶	-20°C 避光保存	使用前加入 12 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		粉剂×1 瓶	-20°C 避光保存	使用前加入 12 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)

注: ①提取液 B 为易挥发组分, 使用后注意及时密封保存;

②提取应用液应根据使用量现用现配, 建议根据当天使用量配制, 切勿全部配制后长时间储存使用。

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、狭缝 3 mm、体积 1.05 mL)、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）：提取应用液体积（mL）为 1：（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取应用液）处理样品，冰浴匀浆，4℃ 12000 g 离心 10 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中，按照细菌或细胞数量（ 10^4 个）：提取应用液体积（mL）为（500-1000）：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取应用液），冰浴超声破碎（功率 300 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 3 min），4℃ 12000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③血清（浆）、培养液等液体样本：直接测定或适当稀释后再进行测定。

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试剂三应用液的制备（现用现配）：使用前根据使用量按试剂三：蒸馏水=1:100 体积比配制，充分混匀即为试剂三应用液。

③试剂四应用液的制备（现用现配）：使用前根据使用量按试剂四：蒸馏水=1:25 体积比配制，充分混匀即为试剂四应用液。

④检测工作液的配制（现用现配）：按试剂三应用液：试剂四应用液：试剂五：试剂六=1:1:4:4 的体积比配制，充分混匀即为检测工作液。

⑤试验前将试剂一和检测工作液置于 37℃ 预热 5 min 以上。

⑥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	250	250
粗酶液	50	-
蒸馏水	-	50
检测工作液	500	500
试剂二	200	200

吸光值测定：①充分混匀并立即开始计时，测定 10 s 时（总时间）340 nm 处吸光值，记为 A1 测定和 A1 空白；②37℃ 恒温准确反应 600 s，测定 610 s 时（总时间）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. 乙酰辅酶 A 羧化酶 (ACC) 活性计算

① 按组织蛋白浓度计算

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。

$$\text{ACC (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\varepsilon \times d \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{321.54 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

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。

$$\text{ACC (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}} \times 10^9}{\varepsilon \times d \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{321.54 \times \Delta A}{W}$$

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。

$$\text{ACC (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}} \times 10^9}{\varepsilon \times d \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{321.54 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

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。

$$\text{ACC (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\varepsilon \times d \times V_{\text{样}} \times T} = 321.54 \times \Delta A$$

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.05 mL；V 提：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：酶促反应时间，10 min；Cpr：粗酶液蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计，若 500 万细菌或细胞则代入 500 即可； 10^9 ：单位换算系数， $1 \text{ mol} = 10^9 \text{ nmol}$ 。

四、注意事项

- ① 准确在相应时间点完成吸光值测定，以确保实验结果的准确性和重复性；
- ② 若 ΔA 大于 0.5，建议将粗酶液使用蒸馏水适当稀释后再进行测定；若 ΔA 小于 0.02，建议适当延长酶促反应时间（37°C 反应时间）或适当增加样本量后再进行测定，计算时相应修改；
- ③ 提取液 A 中含有约 1 mg/mL 蛋白，测定样本蛋白含量后需减去提取液自身的蛋白含量；
- 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.

