

使用说明书

Instruction Manual

ATP-柠檬酸裂解酶活性检测试剂盒（紫外分光光度法） ACL Assay Kit (UV Spectrophotometry)

产品描述

ATP-柠檬酸裂解酶 (ATP-citrate lyase, ACL; EC4.1.3.8) 是脂肪酸合成中的关键酶，其催化产生的乙酰辅酶 A 可用于脂肪酸合成和碳链延长、黄酮类物质合成、氨基酸合成等。

检测原理

ACL 在 ATP 和辅酶 A 存在的情况下催化柠檬酸裂解为乙酰辅酶 A、草酰乙酸、腺苷二磷酸和磷酸盐，苹果酸脱氢酶进一步催化草酰乙酸和 NADH 生成苹果酸和 NAD⁺，在 340nm 测定 NADH 减少速率，计算 ACL 活性。

产品组成及储存条件

50T/48S 规格的产品组成如下：

组成	规格	储存条件
CB0013UV-ES	50mL×1 瓶	4°C保存
CB0013UV-A	50mL×1 瓶	4°C保存
CB0013UV-B	粉剂×1 瓶	-20°C保存
CB0013UV-C	粉剂×1 支	4°C保存

注：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

操作说明

一、自备用品：

紫外分光光度计、台式低温离心机、天平、水浴锅、移液器、1mL 石英比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

二、样本的前处理：

- 细菌或培养细胞：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；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 1mL CB0013UV-ES)，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)；8000g 4°C离心 10min，取上清，置冰上待测。
- 组织：按照组织质量 (g)：提取液体积(mL)为 1: 5-10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL CB0013UV-ES)，进行冰浴匀浆；于 4°C，8000g 离心 10min，取上清，置于冰上待测。
- 血清 (浆) 或其他液体：直接检测。

三、测定步骤：

- 分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 340nm，蒸馏水调零。
- 工作液的配制：将 CB0013UV-B 和 CB0013UV-C 转移至 CB0013UV-A 中，充分混合溶解，置于 37°C (哺乳动物) 或 25°C (其它物种) 水浴 5min；(注意：可取少量 CB0013UV-A 至 CB0013UV-B 和 CB0013UV-C 中，充分混匀溶解后转移至试剂 A 瓶中，重复 2-3 遍)；用不完的试剂分装后-20°C保存，禁止反复冻融。
- 样本测定 (在 1mL 石英比色皿中加入)：

试剂名称	测定管 (μL)
样本	50
工作液	950

混匀，立即记录 340nm 处 20s 时的吸光值 A1 和 2min 20s 后的吸光值 A2，计算 $\Delta A = A1 - A2$ 。

四、ACL 活性计算：

1. 血清（浆）ACL 活力计算：

单位定义：每毫升血清（浆）每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$ACL (U/mL) = [\Delta A \times V \text{ 反总} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V \text{ 样} \div T = 1608 \times \Delta A$$

2. 组织、细菌或细胞中 ACL 活力计算：

(1) 按样本蛋白浓度计算

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。

$$ACL (U/mg \text{ prot}) = [\Delta A \times V \text{ 反总} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V \text{ 样} \times Cpr) \div T = 1608 \times \Delta A \div Cpr$$

(2) 按样本鲜重计算

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。

$$ACL (U/g \text{ 鲜重}) = [\Delta A \times V \text{ 反总} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V \text{ 样} \div V \text{ 样总}) \div T = 1608 \times \Delta A \div W$$

(3) 按细菌或细胞密度计算

单位定义：每 1 万个细胞每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$ACL (U/10^4 \text{ cell}) = [\Delta A \times V \text{ 反总} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V \text{ 样} \div V \text{ 样总}) \div T = 3.216 \times \Delta A$$

注：V 反总：反应体系总体积， 1×10^{-3} L； 10^9 ：单位换算系数， $1 \text{ mol} = 10^9 \text{ nmol}$ ； ϵ ：NADH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 L / mol / cm；d：比色皿光径，1cm；V 样：加入样本体积，0.05 mL；V 样总：加入提取液体积，1 mL；T：反应时间，2 min；Cpr：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。

注意事项

1. 蛋白定量测定，建议使用 TargetMol 生产的 BCA Protein Quantification Kit (C0050)。
2. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

