

使用说明书

Instruction Manual

脂肪酸合成酶(FAS)活性检测试剂盒（分光光度法）

Fatty Acid Synthase Assay Kit (Spectrophotometry)

产品描述

脂肪酸合成酶 (Fatty Acid Synthase, FAS) 是脂肪酸合成关键酶, 催化乙酰辅酶 A 和丙二酰辅酶 A 而生成长链脂肪酸。FAS 普遍 表达于各种组织细胞中, 在哺乳动物肝、肾、脑、肺和乳腺以及脂肪组织中表达丰富。

检测原理

脂肪酸合成酶催化乙酰 CoA、丙二酰 CoA 和 NADPH 生成长链脂肪酸和 NADP⁺; NADPH 在 340nm 有吸收峰, 而 NADP⁺ 没有; 通过测定 340nm 光吸收下降速率, 计算 FAS 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
CB0071S-A	50mL×1 瓶	-20℃保存; 用前 1 天取出置于 4℃充分解冻后混匀。
CB0071S-B	粉剂×1 瓶	4℃保存; 临用前加入 1100μL CB0071S-D, 充分溶解。
CB0071S-C	粉剂×1 瓶	4℃保存; 临用前加入 1100μL CB0071S-D, 充分溶解。
CB0071S-D	50mL×1 瓶	4℃保存。
CB0071S-E	粉剂×1 瓶	4℃保存; 临用前加入 2100μL CB0071S-D, 充分溶解。

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:

研钵、冰、台式离心机、紫外分光光度计、1mL 石英比色皿、可调式移液枪和蒸馏水。

二、粗酶提取:

- 组织: 按照组织质量 (g): CB0071S-A 体积(mL)为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL CB0071S-A) 进行冰浴匀浆。16000rpm, 4℃离心 40min, 取上清置冰上待测。
- 细菌、真菌: 按照细胞数量 (10⁴ 个): CB0071S-A 体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细胞加入 1mL CB0071S-A), 冰浴超声波破碎细胞 (功率 300w, 超声 3 秒, 间隔 7 秒, 总时间 3min); 然后 16000rpm, 4℃, 离心 40min, 取上清置于冰上待测。
- 血清等液体: 直接测定。

三、测定步骤:

- 分光光度计预热 30min, 调节波长到 340 nm, 蒸馏水调零。
- CB0071S-D 置于 40℃水浴中预热 30 min。
- 在 1mL 石英比色皿中依次加入下列试剂:

试剂名称	空白管 (μL)	测定管 (μL)
蒸馏水	100	
CB0071S-B	20	
CB0071S-C	20	
CB0071S-D	820	
CB0071S-E	40	
迅速混匀后 340nm 处测定吸光值, 记录第 30s 和 90s 时吸光值, 分别记录为 A1 和 A2。△A 空=A1-A2。		
上清液		100
CB0071S-B		20
CB0071S-C		20
CB0071S-D		820
CB0071S-E		40
迅速混匀后于 340nm 处测定吸光值, 记录第 30s 和 90s 时吸光值, 分别记录为 A1 和 A2。△A 测=A3-A4。		

注: 空白管只需要测定 1 次。

四、FAS 活性计算公式:

1. 按照蛋白浓度计算

活性单位定义: 37°C 中每毫克蛋白每分钟氧化 1 μmol NADPH 为 1 个酶活单位。

$$\text{FAS } (\mu\text{mol/min/mg prot}) = [(\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \div \epsilon \div d \times V \text{ 反总} \times 10^6] \div (\text{Cpr} \times V \text{ 样}) \div T$$

$$= 1.61 \times (\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \div \text{Cpr}$$

2. 按照样本质量计算

活性单位定义: 37°C 中每克组织每分钟氧化 1 μmol NADPH 为 1 个酶活单位。

$$\text{FAS } (\mu\text{mol/min/g}) = [(\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \div \epsilon \div d \times V \text{ 反总} \times 10^6] \div (W \times V \text{ 样} \div V \text{ 样总}) \div T$$

$$= 1.61 \times (\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \div W$$

3. 按细胞数量计算

活性单位定义: 37°C 中每 10⁴ 个细胞每分钟氧化 1 μmol NADPH 为 1 个酶活单位。

$$\text{FAS } (\mu\text{mol/min}/10^4 \text{ cell}) = [(\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \div \epsilon \div d \times V \text{ 反总} \times 10^6] \div (\text{细胞数量} \times V \text{ 样} \div V \text{ 样总}) \div T$$

$$= 1.61 \times (\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \div \text{细胞数量}$$

4. 按液体体积计算

活性单位定义: 37°C 中每毫升样本每分钟氧化 1 μmol NADPH 为 1 个酶活单位。

$$\text{FAS } (\mu\text{mol/min/mL}) = [(\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \div \epsilon \div d \times V \text{ 反总} \times 10^6] \div V \text{ 样} \div T$$

$$= 1.61 \times (\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管})$$

注: ϵ : NADPH 摩尔消光系数, 6.22×10³/mol/cm; d: 比色皿光径, 1 cm; V 反总: 反应体系总体积, 1000μL=0.001 L; Cpr: 上清液蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; V 样: 加入反应体系中上清液体积, 100μL=0.1 mL; T: 反应时间, 1min。

注意事项

1. 配制好的试剂 4°C 保存, 三天内使用完。
 2. 蛋白定量测定, 建议使用 TargetMol 生产的 BCA Protein Quantification Kit (C0050)。
 3. 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。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作

