

乙酰辅酶A含量检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1442

产品规格：100管/96样

产品简介：

乙酰辅酶A广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中。是生物体能源物质代谢过程中产生的一种重要的中间代谢产物。在体内能源物质代谢中是一个枢纽性的物质。糖、脂肪、蛋白质三大营养物质通过乙酰辅酶A汇聚成一条共同的代谢通路-三羧酸循环和氧化磷酸化，经过这条通路彻底氧化生成二氧化碳和水，释放能量用于ATP合成。此外，乙酰辅酶A是合成脂肪酸，酮体，胆固醇及其衍生物等生理活性物质的前体物质。

苹果酸脱氢酶可催化苹果酸和NAD生成草酰乙酸和NADH。柠檬酸合酶可催化乙酰辅酶A和草酰乙酸生成柠檬酸和辅酶A。利用苹果酸脱氢酶和柠檬酸合酶的偶联反应，乙酰辅酶A含量和NADH的生成速率成正比，340nm下吸光值的上升速率反应了乙酰辅酶A含量的高低。

试验中所需的仪器和试剂：

紫外分光光度计/酶标仪、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、微量石英比色皿/96孔板、研钵、冰和蒸馏水。

产品组成：

试剂一：液体100mL×1瓶，4℃保存。

试剂二：粉剂×1支，-20℃保存。临用前加入250μL试剂五充分溶解备用；用不完的试剂4℃保存一周；

试剂三：液体×1支，4℃保存。临用前加入250μL试剂五充分溶解备用；用不完的试剂4℃保存一周；

试剂四：粉剂×1瓶，-20℃保存。临用前加入22.5mL试剂五充分溶解备用；用不完的试剂4℃保存一周；

试剂五：液体30mL×1瓶，4℃保存。

工作液的配制：临用前请根据拟用工作液体积（样本数×0.23mL）将试剂二、三和四按照1:1:90的比例混合，或者直接把试剂二和试剂三加入到试剂四中混匀（可以测定96样）；加样前置37℃（哺乳动物）或25℃（其它物种）水浴锅中预热30min；现配现用。

自备材料：

紫外分光光度计、恒温水浴锅、台式离心机、可调式移液器、1mL石英比色皿、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

操作步骤（仅供参考）：

一、乙酰辅酶A的提取

1. 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）：试剂一体积（mL）为500~1000：1的比例（建议500万细菌或细胞加入1mL试剂一），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）；8000g4℃离心10min，取上清，置冰上待测。
2. 组织：按照组织质量（g）：试剂一体积（mL）为1：5~10的比例（建议称取约0.1g组织，加入1mL试剂一），进行冰浴匀浆。8000g4℃离心10min，取上清，置冰上待测。

二、测定操作表：

1. 分光光度计或酶标仪预热30min，用蒸馏水于340nm处调零。
2. 将工作液置37℃（哺乳动物）或25℃（其它物种）水浴锅中预热10min。
3. 取25μL样本和230μL工作液至微量石英比色皿或者96孔板，混匀，立即记录340nm处20s的吸光值A1和80s时



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

的吸光值A2，计算 $\Delta A=A2-A1$ 。

三、乙酰辅酶A含量计算

a. 使用微量石英比色皿测定的计算公式如下：

标准条件下测定的回归方程为 $y=1640x+0.012$ ；x为吸光值，y为标准品浓度（nmol/mL）。

注意：本试剂盒最低检测限为1.6nmol/mL。

（1）按照蛋白浓度计算

乙酰辅酶A含量(nmol/mgprot)=[(1640× ΔA +0.012)×V1]÷(V1×Cpr)=(1640× ΔA +0.012)÷Cpr需要另外测定，建议使用本公司BCA蛋白质含量测定试剂盒。

（2）按照样本质量计算

乙酰辅酶A含量(nmol/g鲜重)=[(1640× ΔA +0.012)×V1]÷(W×V1÷V2)=(1640× ΔA +0.012)÷W

（3）按照细菌或细胞密度计算：

乙酰辅酶A含量(nmol/10⁴)=[(1640× ΔA +0.012)×V1]÷(500×V1÷V2)=(1640× ΔA +0.012)÷500

V1：加入反应体系中样本体积，0.025mL；V2：加入提取液体积，1mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；500：细胞或细菌总数，500万。

b. 使用96孔板测定的计算公式如下：

标准条件下测定的回归方程为 $y=3280x+0.024$ ；x为吸光值，y为标准品浓度（nmol/mL）。

注意：本试剂盒最低检测限为1.6nmol/mL。

（1）按照蛋白浓度计算

乙酰辅酶A含量(nmol/mgprot)=[(3280× ΔA +0.024)×V1]÷(V1×Cpr)=(3280× ΔA +0.024)÷Cpr需要另外测定，建议使用本公司BCA蛋白质含量测定试剂盒。

（2）按照样本质量计算

乙酰辅酶A含量（nmol/g鲜重）=[(3280× ΔA +0.024)×V1]÷(W×V1÷V2)=(3280× ΔA +0.024)÷W

（3）按照细菌或细胞密度计算：

乙酰辅酶A含量（nmol/10⁴）=[(3280× ΔA +0.024)×V1]÷(500×V1÷V2)=(3280× ΔA +0.024)÷500

V1：加入反应体系中样本体积，0.025mL；V2：加入提取液体积，1mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；500：细胞或细菌



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com