

顺乌头酸酶(ACO)活性检测试剂盒（紫外分光光度法）

产品货号：BA1882

产品规格：50管/48样

产品简介：

顺乌头酸酶(aconitase)，三羧酸循环中的酶，催化柠檬酸转变为异柠檬酸。柠檬酸本身不易氧化，在顺乌头酸酶作用下，通过脱水与加水反应，使羟基由 β 碳原子转移到 α 碳原子上，生成易于脱氢氧化化的异柠檬酸，为进一步的氧化脱羧反应作准备。

ACO催化柠檬酸转化成异柠檬酸，异柠檬酸氧化脱羧将NAD⁺还原生成NADH，导致340nm处光吸收上升。

注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品组成：

试剂一：50mL×1瓶，-20℃保存；

试剂二：10mL×1瓶，-20℃保存；

试剂三：1mL×1支，-20℃保存；

试剂四：液体60mL×1瓶，4℃保存；

试剂五：液体5mL×1瓶，4℃保存；

试剂六：粉剂×1支，-20℃保存；临用前加3mL蒸馏水充分溶解；现配现用

试剂七：粉剂×1支，4℃保存；临用前加36mL试剂四充分溶解；

工作液：临用前在36mL试剂七中加入3mL蒸馏水、3mL试剂四、3mL试剂五、3mL试剂六充分混匀。

需自备的仪器和用品：

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

样本的前处理：

组织、细菌或细胞中胞浆蛋白与线粒体蛋白的分离：

1. 称取约0.1g组织或收集500万细胞，加入1mL试剂一和10 μ L试剂三，用冰浴匀浆器或研钵匀浆。
2. 将匀浆转入离心管内600g，4℃离心5min。
3. 弃沉淀，将上清液移至另一离心管中，11000g，4℃离心10min。
4. 上清液即胞浆提取物，可用于测定胞质顺乌头酸酶活性。
5. 在步骤④的沉淀中加入200 μ L试剂二和2 μ L试剂三，超声波破碎(冰浴，功率20%或200W，超声3秒，间隔10秒，重复30次)，用于线粒体顺乌头酸酶活性测定。

测定步骤：

1. 分光光度计预热30min以上，调节波长至340nm，蒸馏水调零。
2. 样本测定
(1)将工作液，置于37℃(哺乳动物)或25℃(其它物种)水浴10min；现配现用；若分次用将工作液分装后于-20℃保存，一星期内可用。
(2)在1mL石英比色皿中加入100 μ L样本900 μ L工作液，混匀，立即记录340nm处20s时的吸光值A1和3min20s后的吸光值A2，计算 $\Delta A=A_2-A_1$ 。



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

ACO活性计算:

1. 用石英比色皿测定的计算公式如下

(1)按样本蛋白浓度计算

单位的定义: 每mg组织蛋白每分钟生成1nmol的NADH定义为一个酶活性单位。

$$\text{ACO活性}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mg prot}) = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div T = 536 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

(2)按样本鲜重计算

单位的定义: 每g组织每分钟生成1nmol的NADH定义为一个酶活性单位。

$$\text{ACO}(\text{nmol}/\text{min}/\text{g鲜重}) = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 108 \times \Delta A \div W$$

(3)按细菌或细胞密度计算

单位的定义: 每1万个细菌或细胞每分钟生成1nmol的NADH定义为一个酶活性单位。

$$\text{ACO活性}(\text{nmol}/\text{min}/10^4\text{cell}) = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.722 \times \Delta A$$

V反总: 反应体系总体积, 0.001L; ϵ : NADH摩尔消光系数, $6.22 \times 10^3 \text{L}/\text{mol}/\text{cm}$; d: 比色皿光径, 1cm; V样: 加入样本体积, 0.1mL; V样总: 加入提取液体积, 0.202mL; T: 反应时间, 3min; 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。



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