

## 脂肪酸合成酶（FAS）活性检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1478

产品规格：100管/96样

### 产品简介：

脂肪酸合成酶（Fatty acid synthetase, FAS）是一种关于脂肪酸再生能力并起重要作用的限速酶，它通过催化丙二酰辅酶A、乙酰辅酶A和NADPH生成长链脂肪酸和NADP<sup>+</sup>，NADPH在340nm条件下有特征吸收峰。通过检测340nm条件下吸光值的下降速率，可以计算出FAS活性。

**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。**

### 产品内容：

| 试剂名称 | 100管/96样   | 保存条件 |
|------|------------|------|
| 提取液  | 液体110mL×1瓶 | 2-8℃ |
| 试剂一  | 粉剂×2支      | -20℃ |
| 试剂二  | 粉剂×2支      | -20℃ |
| 试剂三  | 液体20mL×1瓶  | 2-8℃ |
| 试剂四  | 粉剂×2支      | -20℃ |

### 溶液的配制：

1. 试剂一：临用前取一支加入1mL试剂三，充分溶解，用不完的试剂-20℃分装保存2周，禁止反复冻融。
2. 试剂二：临用前取一支加入1mL试剂三，充分溶解，用不完的试剂-20℃分装保存2周，禁止反复冻融。
3. 试剂四：临用前取一支加入0.5mL试剂三，充分溶解，用不完的试剂-20℃分装保存2周，禁止反复冻融。

### 需自备的仪器和用品：

紫外分光光度计/酶标仪、水浴锅/培养箱、低温离心机、可调式移液器、微量石英比色皿/96孔UV板、研钵/匀浆器/超声波细胞破碎仪、冰和蒸馏水。

### 操作步骤（仅供参考）：

#### 一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 细菌、细胞样本的制备：按照细胞数量（10<sup>4</sup>个）：提取液体积（mL）为500~1000：1的比例（建议500万细胞加入1mL提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率300W，超声3秒，间隔9秒，总时间5min）；于4℃，12000g离心20min，取上清液，置于冰上待测。
2. 组织样本的制备：按照质量（g）：提取液一体积（mL）为1：5~10的比例（建议称取约0.1g组织，加入1mL提取液）加入提取液，冰浴匀浆后于4℃，12000g离心20min，取上清液，置于冰上待测。
3. 血清（浆）等液体样本：直接测定。

#### 二、测定步骤

1. 紫外分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至340nm，蒸馏水调零。
2. 试剂三临用前置于37℃（哺乳动物）或25℃（其他物种）中预热15min。
3. 加样表（在96孔UV板或者微量石英比色皿中加入下列试剂）



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

| 试剂名称 (μL) | 测定管 | 空白管 |
|-----------|-----|-----|
| 上清液       | 20  | -   |
| 蒸馏水       | -   | 20  |
| 试剂一       | 16  | 16  |
| 试剂二       | 16  | 16  |
| 试剂三       | 140 | 140 |
| 试剂四       | 8   | 8   |

迅速吹打混匀,记录第15s的吸光值A1测定(A1空白),和1min15s时的吸光值A2测定(A2空白),计算  $\Delta A = (A1\text{测定}-A2\text{测定}) - (A1\text{空白}-A2\text{空白})$ 。空白管只需做1-2次。

如果样本数量过多也可以将试剂一到试剂四按上述比例混匀配制成工作液进行测定。

### 三、FAS活性计算

#### 1. 使用微量石英比色皿测定的计算公式

##### (1) 按照蛋白浓度计算

单位定义: 在37°C (哺乳动物) 或25°C (其他物种) 条件下, 每毫克蛋白每分钟氧化1nmol NADPH 为1个酶活单位。  $FAS (U/mg\ prot) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9] \div (Cpr \times V_{\text{样}}) \div T = 1607.7 \times \Delta A \div Cpr$

##### (2) 按照样本质量计算

单位定义: 在37°C (哺乳动物) 或25°C (其他物种) 条件下, 每克组织每分钟氧化1nmol NADPH 为1个酶活单位。

$FAS (U/g\ 质量) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 1607.7 \times \Delta A \div W$

##### (3) 按细胞数量计算

单位定义: 在37°C (哺乳动物) 或25°C (其他物种) 条件下, 每10<sup>4</sup>个细胞每分钟氧化1nmol NADPH为1个酶活单位。

$FAS (U/10^4\ cell) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9] \div (细胞数量 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 1607.7 \times \Delta A \div 细胞数量$

##### (4) 按液体体积计算

单位定义: 在37°C (哺乳动物) 或25°C (其他物种) 条件下, 每毫升样本每分钟氧化1nmol NADPH为1个酶活单位。

$FAS (U/mL) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 1607.7 \times \Delta A$

$\epsilon$ : NADPH摩尔消光系数,  $6.22 \times 10^3\ L/mol/cm$ ;  $d$ : 比色皿光径, 1cm;  $V_{\text{反总}}$ : 反应体系总体积,  $200\ \mu L = 2 \times 10^{-4}L$ ;  $Cpr$ : 上清液蛋白质浓度, mg/mL;  $W$ : 样品质量, g;  $V_{\text{样}}$ : 加入反应体系中上清液体积,  $20\ \mu L = 0.02mL$ ;  $V_{\text{样总}}$ : 提取液体积, 1mL;  $T$ : 反应时间, 1min; 细胞数量: 以万计。

#### 2. 使用96孔UV板测定的计算公式

将上述计算公式中比色皿光径d-1cm变为d-0.6cm进行计算即可

#### 注意事项:

1. 提取液中含有BSA (约2mg/mL), 测定上清液蛋白浓度时需要减去提取液中蛋白浓度。
2. 如果测定吸光值>1.5或 $\Delta A > 0.5$ , 建议用蒸馏水稀释样本后再进行测定, 计算公式中乘稀释倍数。如果测定吸光值较小, 建议加大样本量后再进行测定。



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