

ATP-柠檬酸裂解酶(ACL)活性检测试剂盒(紫外分光光度法)

产品货号: BA1920

产品规格: 50T/48S

产品简介:

ATP-柠檬酸裂解酶(ATP-citrate lyase, ACL)是催化柠檬酸生成乙酰辅酶A的关键胞质酶,其催化产生的乙酰辅酶A是合成脂肪酸与胆固醇等脂类物质的主要原料,并可参与相关重要蛋白的修饰作用,是体内能源物质代谢的枢纽性物质。

在ATP和辅酶A存在的情况下,ACL能将柠檬酸催化裂解为乙酰辅酶A、草酰乙酸、ADP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⁺,导致340nm处光吸收下降。

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:

试剂名称	规格	保存条件
提取液一	液体50mL×1瓶	2-8℃
提取液二	液体0.5mL×1支	-20℃
试剂一	液体60mL×1瓶	2-8℃
试剂二	粉剂×1支	-20℃
试剂三	粉剂×1瓶	-20℃
试剂四	粉剂×1支	-20℃
试剂五	液体30μL×1支	2-8℃

溶液的配制:

1. 试剂二: 临用前加入1mL试剂一,充分溶解待用;可分装后-20℃保存,避免反复冻融;
2. 试剂三: 临用前加入5mL试剂一,充分溶解待用;可分装后-20℃保存,避免反复冻融;
3. 试剂四: 临用前加入1mL试剂一,充分溶解待用;可分装后-20℃保存,避免反复冻融;
4. 试剂五: 临用前加入1mL试剂一,充分溶解待用;可分装后-20℃保存,避免反复冻融;
5. 提取液的配制: 按提取液一: 提取液二=990: 10 (V: V)的比例配制,根据样本量现配现用, **禁止将提取液二一次性全部加入提取液一混匀分装待用。**

需自备的仪器和用品:

紫外分光光度计、天平、台式低温离心机、1mL石英比色皿、可调式移液枪、研钵/匀浆器、水浴锅、冰盒。

操作步骤:

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. 组织: 按照质量(g): 提取液体积(mL)为1: 5~10的比例(建议称取约0.1g,加入1mL提取液)进行冰浴匀浆。于4℃, 8000g离心10min,取上清,置于冰上待测。
2. 细胞或细菌: 按照细胞或细菌数量(10⁴个): 提取液体积(mL)为500~1000: 1的比例(建议500万细胞或细菌加入1mL提取液),冰浴超声波破碎细胞或细菌(功率300w,超声3秒,间隔7秒,总时间3min),于4℃, 8000g离心10min,取上清,置于冰上待测。
3. 血清(浆)或其他液体: 直接检测。



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

二、测定步骤

1. 分光光度计预热30min以上，波长调至340nm，蒸馏水调零。
2. 将试剂一置于37℃（哺乳动物）或25℃（其它物种）水浴10min。
3. 操作表（在1mL石英比色皿中依次加入下列试剂）：

试剂名称（ μL ）	测定管	空白管
试剂一	805	805
试剂二	20	20
试剂三	100	100
试剂四	20	20
样本	50	-
蒸馏水	-	50

在1mL石英比色皿中分别加入上述试剂，充分混匀后于340nm处测定10s时的吸光值A1，迅速置于37℃（哺乳动物）或25℃（其它物种）水浴2min，拿出迅速擦干测定130s时的吸光值A2，计算 $\Delta A_{\text{测定管}} = A1_{\text{测定}} - A2_{\text{测定}}$ ， $\Delta A_{\text{空白管}} = A1_{\text{空白}} - A2_{\text{空白}}$ ， $\Delta A = \Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}$ （空白管只需做1-2次）。

注意：如果样本量大，可按试剂一：试剂二：试剂三：试剂四：试剂五=161：4：20：4：1的比例配制成工作液使用，工作液应根据样本量现配现用。

三、ACL活性计算

1. 按样本蛋白浓度计算

单位定义：每mg蛋白每分钟消耗1nmol NADH定义为一个酶活力单位

$$\text{ACL活性 (U/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \div (\epsilon \times d)] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 1607.7 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

2. 按样本质量计算

单位定义：每g组织每分钟消耗1nmol NADH定义为一个酶活力单位。

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

3. 按照细胞数量计算

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

$$\text{ACL活性 (U/10}^4 \text{ cell)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \div (\epsilon \times d)] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 3.215 \times \Delta A$$

4. 按液体体积计算

单位定义：每mL液体每分钟消耗1nmol NADH定义为一个酶活力单位。

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

V反总：反应总体积， $1 \times 10^{-3}\text{L}$ ； 10^9 ：单位换算系数， $1\text{mol} = 10^9\text{nmol}$ ； ϵ ：NADH摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$ ； d ：比色皿光径，1cm；V样：加入样本体积，0.05mL；V样总：加入提取液体积，1mL；Cpr：蛋白浓度，mg/mL，蛋白浓度自行测定；W：样本质量，g；500：细胞或细菌数量，500万；T：反应时间，2min



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