

# 乙酰辅酶A羧化酶（ACC）活性检测试剂盒（酶法） （紫外分光光度法）

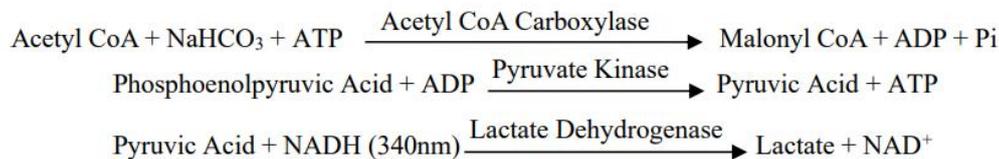
产品货号：BA2261

产品规格：50T/48S

## 产品说明：

乙酰辅酶A羧化酶（Acetyl-CoA carboxylase, ACC）在生物体内催化乙酰辅酶A羧化生成丙二酰辅酶A，是脂肪酸和许多次生代谢产物合成的关键酶。ACC的活性在一定程度上决定了脂肪酸的合成速度和含油量的高低。

ACC能够催化乙酰辅酶A、NaHCO<sub>3</sub>和ATP生成丙二酰辅酶A、ADP和无机磷，丙酮酸激酶和乳酸脱氢酶进一步依次催化NADH生成NAD<sup>+</sup>，在340nm下测定NADH下降速率，即可反映ACC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。

## 产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液一	液体60mL×1瓶	2-8℃
提取液二	液体0.6mL×1支	-20℃
试剂一 A	液体15mL×1瓶	2-8℃
试剂一 B	粉剂×1支	-20℃
试剂二	粉剂×1瓶	-20℃
试剂三	液体60 μL×1支	2-8℃
试剂四	液体25 μL×1支	2-8℃
试剂五	粉剂×1瓶	-20℃
试剂六	粉剂×1瓶	-20℃

## 溶液的配制：

1. 提取液二：为易挥发试剂，用完后尽快密封，-20℃保存。
2. 提取液的配制：按提取液一：提取液二=990 μL：10 μL（共1mL，约1T）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中。
3. 试剂一：临用前将试剂一B全部倒入试剂一A，充分溶解待用；可分装后-20℃保存4周，避免反复冻融。
4. 试剂二：试剂放于棕色瓶内玻璃瓶中，临用前加入12mL蒸馏水，充分溶解待用；可分装后-20℃保存4周，避免反复冻融。
5. 试剂三稀释液：临用前离心，根据样本量按照试剂三：蒸馏水=1 μL：50 μL（共51 μL，约1T）的比例充分混匀，现配现用。
6. 试剂四稀释液：临用前离心，根据样本量按照试剂四：蒸馏水=4 μL：500 μL（共504 μL，约10T）的比例充分混匀，现配现用。



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

- 试剂五：试剂放于棕色瓶内玻璃瓶中，临用前加入12mL蒸馏水；可分装后-20℃保存4周，避免反复冻融。
- 试剂六：试剂放于棕色瓶内玻璃瓶中，临用前加入12mL蒸馏水；可分装后-20℃保存4周，避免反复冻融。
- 工作液的配制：临用前根据样本量按试剂三稀释液：试剂四稀释液：试剂五：试剂六=50 μL:50 μL:200 μL:200 μL（共500 μL，约1T）的比例配制，现配现用。

#### 自备材料：

紫外分光光度计、分析天平、低温离心机、1mL石英比色皿、可调式移液枪、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、漩涡震荡仪、水浴锅/恒温培养箱、蒸馏水和冰。

#### 测定步骤：

##### 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）

- 组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为1：5~10的比例（建议称取约0.1g组织，加入1mL提取液）进行冰浴匀浆，然后8000g，4℃，离心10min，取上清置于冰上待测。
- 细菌或细胞：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<sup>6</sup>个）：提取液体积（mL）为5~10：1的比例（建议5百万细胞加入1mL提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率300W，超声3秒，间隔7秒，总时间3min）；然后8000g，4℃，离心10min，取上清置于冰上待测。
- 血清（浆）：直接测定。

##### 二、测定步骤

- 分光光度计预热30min以上，调节波长至340nm，蒸馏水调零。
- 临用前根据样本量将试剂一和工作液预热5min。
- 操作表：（在1mL石英比色皿/1.5mL离心管中依次加入下列试剂）：

试剂名称（μL）	测定管	空白管
试剂一	250	250
样本	50	-
蒸馏水	-	50
工作液	500	500
试剂二	200	200

将上述试剂按顺序加入1mL石英比色皿中，立即充分混匀于340nm处测定10s时的吸光值A1，迅速置于37℃准确反应10min，拿出迅速擦干测定10min10s时的吸光值A2。计算ΔA测定=A1测定-A2测定，ΔA空白=A1空白-A2空白，ΔA=ΔA测定-ΔA空白，空白管只需做1-2次

##### 三、ACC活性计算

###### 1. 按样本蛋白浓度计算：

酶活定义：每毫克组织蛋白在反应体系中每分钟催化1nmol NADH转化为1nmol NAD<sup>+</sup>为一个酶活单位。

$$\text{ACC活性 (U/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div T = 321.5 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

###### 2. 按样本质量计算：

酶活定义：每g组织在反应体系中每分钟催化1nmol NADH转化为1nmol NAD<sup>+</sup>为一个酶活单位。

$$\text{ACC酶活 (U/g质量)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 321.5 \times \Delta A \div W$$

###### 3. 按照细菌或细胞数量计算：

酶活定义：每10<sup>6</sup>个细菌或细胞在反应体系中每分钟催化1nmol NADH转化为1nmol NAD<sup>+</sup>为一个酶活单位。

$$\text{ACC酶活 (U/10}^6 \text{ cell)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (N \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 321.5 \times \Delta A \div N$$

###### 4. 按血清（浆）体积计算：

酶活定义：每mL液体在反应体系中每分钟催化1nmol NADH转化为1nmol NAD<sup>+</sup>为一个酶活单位。



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

$$\text{ACC酶活 (U/mL)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 321.5 \times \Delta A$$

V反总：反应体系总体积， $1 \times 10^{-3} \text{L}$ ； $\epsilon$ ：NADH摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3 \text{L/mol/cm}$ ；d：1mL石英比色皿光径，1cm；V样：加入样本体积，0.05mL；V样总：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，10min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL，蛋白浓度自行测定；W：样本质量，g；N：细菌或细胞数量，以 $10^6$ 计； $10^9$ ：单位换算系数， $1 \text{mol} = 10^9 \text{nmol}$ 。

#### 注意事项：

1. 比色皿中反应液的温度必须保持 $37^\circ\text{C}$ ，取小烧杯一只装入一定量的 $37^\circ\text{C}$ 蒸馏水，将此烧杯放入 $37^\circ\text{C}$ 水浴锅中，在反应过程中把比色皿连同反应液放在此烧杯中。
2. 最好两个人同时做此实验，一个人比色，一个人计时，以保证实验结果的准确性。
3. 当A1测定<A1空白时，建议将样本用蒸馏水稀释后再进行测定；当样本 $\Delta A$ 过小时，建议增大样本量或延长反应时间，注意同步修改计算公式。
4. 由于提取液一中含有蛋白（约 $1 \text{mg/mL}$ ），若需要测定样本的蛋白浓度，需要减去提取液本身的蛋白浓度。



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