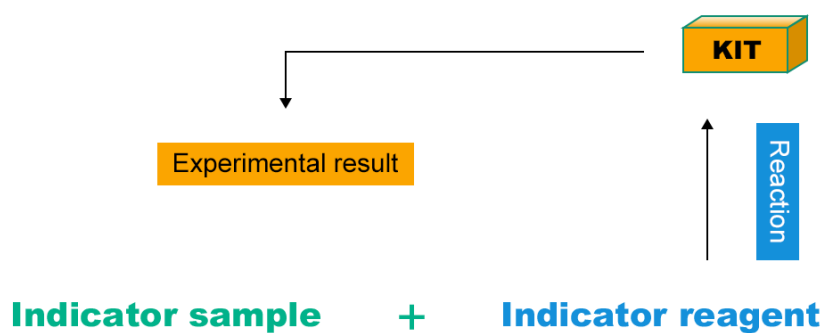


上海茁彩生物科技有限公司  
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0596

Size: 25T/24S

## 脂肪酸合成酶 (FAS) 检测试剂盒说明书

### 紫外分光光度法

\*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

#### 一、测定意义:

FAS 是脂肪酸合成关键酶, 催化乙酰辅酶 A 和丙二酰辅酶 A 而生成长链脂肪酸。FAS 普遍表达于各种组织细胞中, 在哺乳动物肝、肾、脑、肺和乳腺以及脂肪组织中表达丰富。

#### 二、测定原理:

FAS 催化乙酰 CoA、丙二酰 CoA 和 NADPH 生成长链脂肪酸和  $\text{NADP}^+$ ; NADPH 在 340nm 有吸收峰, 而  $\text{NADP}^+$  没有; 通过测定 340nm 光吸收下降速率, 计算 FAS 活性。

#### 三、需自备的仪器和用品:

研钵、冰、台式离心机、紫外分光光度计、1mL 石英比色皿、可调式移液枪和蒸馏水。

#### 四、试剂的组成和配置:

| 种类  | 试剂规格   | 储存条件   | 使用方法及注意事项                          |
|-----|--------|--------|------------------------------------|
| 试剂一 | 液体×1 瓶 | -20℃保存 | 用前 1d 取出置于 4℃充分解冻后混匀               |
| 试剂二 | 粉剂×1 瓶 | 4℃保存   | 临用前加入 550 $\mu\text{L}$ 试剂四, 充分溶解  |
| 试剂三 | 粉剂×1 瓶 | 4℃保存   | 临用前加入 550 $\mu\text{L}$ 试剂四, 充分溶解  |
| 试剂四 | 液体×1 瓶 | 4℃保存   |                                    |
| 试剂五 | 粉剂×1 瓶 | 4℃保存   | 临用前加入 1100 $\mu\text{L}$ 试剂四, 充分溶解 |

## 五、操作步骤：

### ● 粗酶液提取：

1. 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。16000rpm，4℃离心 40min，取上清置于冰上待测。
2. 细菌、真菌：按照细胞数量 ( $10^4$  个)：试剂一体积 (mL) 为 500-1000:1 的比例（建议 500 万细胞加入 1mL 试剂一），冰浴超声波破碎细胞（功率 300w，超声 3 秒，间隔 7 秒，总时间 3 分钟）；然后 16000rpm，4℃离心 40min，取上清置于冰上待测。

## 六、FAS 测定操作：

1. 分光光度计预热 30min，调节波长到 340nm，蒸馏水调零。
2. 试剂四置于 40℃水浴中预热 30min 以上。
3. 空白管：在 1mL 石英比色皿中依次加入 100  $\mu$ L 蒸馏水、20  $\mu$ L 试剂二、20  $\mu$ L 试剂三、820  $\mu$ L 试剂四和 40  $\mu$ L 试剂五，迅速混匀后于 340nm 处测定吸光值，记录第 30s 和 90s 时吸光值，分别记录为 A1 和 A2。 $\Delta A_{\text{空}} = A1 - A2$ 。
4. 测定管：在 1mL 石英比色皿中依次加入 100  $\mu$ L 上清液、20  $\mu$ L 试剂二、20  $\mu$ L 试剂三、820  $\mu$ L 试剂四和 40  $\mu$ L 试剂五，迅速混匀后于 340nm 处测定吸光值，记录第 30s 和 90s 时吸光值，分别记录为 A1 和 A2。 $\Delta A_{\text{测}} = A3 - A4$ 。

## 七、FAS 活性计算：

### (1) 按照蛋白浓度计算

活性单位定义：37℃中每毫克蛋白每分钟氧化 1  $\mu$ mol NADPH 为 1U。

$$\text{FAS (U/mg prot)} = [(\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div \epsilon \div d \times V_{\text{反应总}} \times 10^6] \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div T$$
$$= 1.61 \times (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div \text{Cpr}$$

## (2) 按照样本质量计算

活性单位定义：37°C 中每克组织每分钟氧化 1  $\mu\text{mol}$  NADPH 为 1U。

$$\text{FAS (U/g)} = [(\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \div \varepsilon \div d \times V \text{ 反总} \times 10^6] \div (W \times V \text{ 样} \div V \text{ 样总}) \div T$$
$$= 1.61 \times (\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \div W$$

## (3) 按细胞数量计算

活性单位定义：37°C 中每  $10^4$  个细胞每分钟氧化 1  $\mu\text{mol}$  NADPH 为 1U。

$$\text{FAS (U/} 10^4 \text{ cell)} = [(\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \div \varepsilon \div d \times V \text{ 反总} \times 10^6] \div (\text{细胞数量} \times V \text{ 样} \div V \text{ 样总}) \div T$$
$$= 1.61 \times (\Delta A \text{ 测定管} - \Delta A \text{ 空白管}) \div \text{细胞数量}$$

$\varepsilon$  : NADPH 摩尔消光系数,  $6.22 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$ ;  $d$ : 比色皿光径, 1 cm;  $V \text{ 反总}$ : 反应体系总体积,  $1000 \mu\text{L} = 0.001 \text{ L}$ ;  $C_{\text{pr}}$ : 上清液蛋白质浓度, mg/mL;  $W$ : 样本质量,  $V \text{ 样}$ : 加入反应体系中上清液体积,  $100 \mu\text{L} = 0.1 \text{ mL}$ ;  $T$ : 反应时间, 1min。

## 八、注意事项:

1. 上清液蛋白质浓度需要另外测定, 建议使用本公司 BCA 蛋白质含量测定试剂盒(货号: ZC-S0470)。
2. 配制好的试剂 4°C 保存, 3 天内使用完毕。