

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-S0597

Size: 50T/48S

## 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 NADP<sup>+</sup>; NADPH 在 340nm 有吸收峰, 而 NADP<sup>+</sup>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 1 d 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 μL 试剂四, 充分溶解
试剂三	粉剂×1 瓶	4℃保存	临用前加入 550 μL 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 μL 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°C 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°C 离心 40min, 取上清置于冰上待测。

### ● FAS 测定操作：

1. 分光光度计预热 30min, 调节波长到 340 nm, 蒸馏水调零。
2. 试剂四置于 40°C 水浴中预热 30 min 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。  $\Delta A_{空} = A1 - A2$ 。
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。  $\Delta A_{测} = A3 - A4$ 。

## 六、FAS 活性计算：

### (1) 按照蛋白浓度计算

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

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

### (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  $\mu$ 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。

### 七、注意事项:

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)