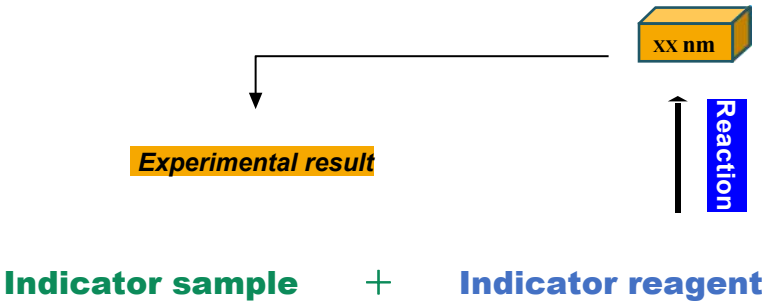
上海茁彩生物科技有限公司

Shanghai zcibio technology Co.,Ltd.



生化检测原理示意图

货号：ZC-S0595　　规格：10管/9样

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

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。

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 +；NADPH 在 340nm 有 吸收峰，而 NADP+没有；通过测定 340nm 光吸收下降速率，计算 FAS 活性。

自备仪器和用品：

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。

试剂组成和配制：

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 220 μL 试剂四，充分溶解
试剂三	粉剂×1 瓶	4℃保存	临用前加入 220 μL 试剂四，充分溶解
试剂四	液体 10 mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂五	粉剂×1 瓶	4℃保存	临用前加入 440 μL 试剂四，充分溶解

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。12000g，4℃离心 40min，取上清置冰上待测。
2. 细菌、真菌：按照细胞数量（104 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 3min）； 然后 12000g，4℃，离心 40min，取上清置于冰上待测。
3. 血清等液体：直接测定。

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 37℃水浴中预热 30 min。
3. 空白管：在 1mL 石英比色皿中依次加入 100μL 蒸馏水、20μL 试剂二、20μL 试剂三、820μL 试 剂四和 40μL 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。△A 空=A1-A2。
4. 测定管：在 1mL 石英比色皿中依次加入 100μL 上清液、20μL 试剂二、20μL 试剂三、820μL 试 剂四和 40μL 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 A3 和 A4。△A 测=A3-A4。

注意：空白管只需测定一次。

FAS 活性计算公式：

（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 1μmol NADPH 为 1 个酶活单位。 FAS(μmol/min/mg prot) =[(△A 测定管－△A 空白管)÷ε÷d×V 反总×106] ÷(Cpr×V 样)÷T =1.61×(△A 测定管－△A 空白管) ÷Cpr

（2） 按照样本质量计算

活性单位定义：37℃中每克组织每分钟氧化 1μmol NADPH 为 1 个酶活单位。 FAS(μmol/min/g) = [(△A 测定管－△A 空白管)÷ε÷d×V 反总×10^6] ÷(W×V 样÷V 样总)÷T =1.61×(△A 测定管－△A 空白管) ÷W

（2） 按细胞数量计算

活性单位定义：37℃中每10^4个细胞每分钟氧化 1μmol NADPH 为1个酶活单位。

FAS(μmol /min/10^4 cell) = [(△A 测定管－△A 空白管)÷ε÷d×V 反总×10^6] ÷(细胞数量×V 样÷V 样总)÷T =1.61×(△A 测定管 －△A 空白管) ÷细胞数量

（3） 按液体体积计算

活性单位定义：37℃中每毫升样本每分钟氧化 1μmol NADPH 为 1 个酶活单位。 FAS(μmol/min/mL) =[(△A 测定管－△A 空白管)÷ε÷d×V 反总×10^6] ÷V 样÷T =1.61×(△A 测定管－△A 空白 管)

ε：NADPH 摩尔消光系数，6.22×10^3 /mol/cm；d：比色皿光径，1 cm；V 反总：反应体系总 体积，1000μL=0.001 L；Cpr：上清液蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；V 样：加入 反应体系中上清液体积，100μL=0.1 mL；T：反应时间，1min。

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。
2. 配制好的试剂 4℃保存，三天内使用完毕。