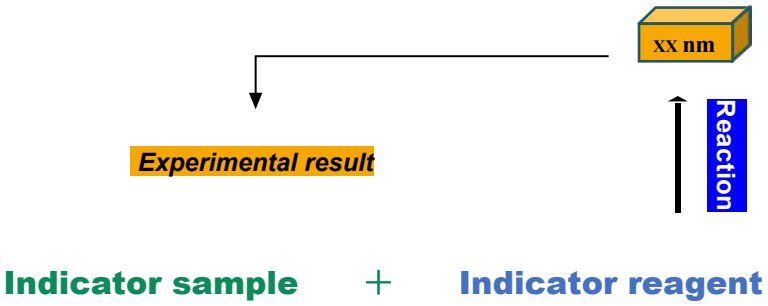
上海茁彩生物科技有限公司

Shanghai zcibio technology Co.,Ltd.



生化检测原理示意图

货号：ZC-S0597　　规格：50管/48样

脂肪酸合成酶（fatty acid synthase，FAS）活性试剂盒说明书

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

产品内容：

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

产品简介：

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。

试验中所需的仪器和试剂：

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。

操作步骤：

一、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。

二、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℃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 μL蒸馏水、20 μL试剂二、20 μL试剂三、820 μL试剂四和40 μL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A1和A2。△A测=A3-A4。

三、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1μmol NADPH 为1U。

FAS(U/mg prot) =[(△A测定管－△A空白管)÷ε÷d×V反总×10^6] ÷(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1U。

FAS(U/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

（3） 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1U。

FAS(U/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

ε：NADPH摩尔消光系数，6.22×10^3L/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，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：

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。