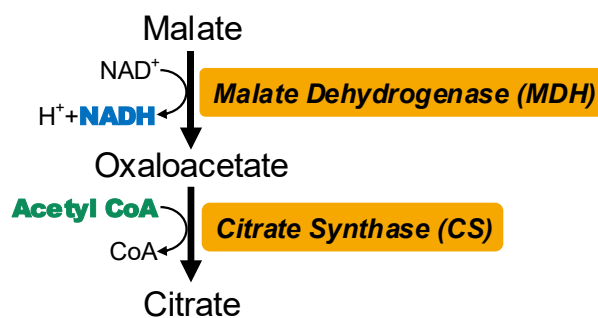




乙酰辅酶 A 含量检测试剂盒

Acetyl Coenzyme A Content Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



乙酰辅酶 A 含量检测试剂盒

Acetyl Coenzyme A Content Assay Kit

一、产品描述

乙酰辅酶 A 广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中，是生物体能源代谢过程中产生的一种重要的中间代谢产物，作为多种酶促反应的必要辅助因子直接参与三羧酸循环、氨基酸代谢、脂类代谢和萜类代谢等，在体内能源物质代谢中起到枢纽性作用，对于维持生命活动的正常进行十分重要。

苹果酸脱氢酶能够催化苹果酸和 NAD^+ 生成草酰乙酸和 NADH ，柠檬酸合酶进一步催化草酰乙酸和乙酰辅酶 A 生成柠檬酸和辅酶 A，通过苹果酸脱氢酶和柠檬酸合酶的偶联反应体系，乙酰辅酶 A 含量和 NADH 的生成速率成正比， NADH 在 340 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值的变化速率即可定量检测乙酰辅酶 A 的含量。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液 A	液体 110 mL×1 瓶	4°C 保存	-
提取液 B	液体 600 μL ×2 瓶	-20°C 保存	-
试剂一	液体 5 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	粉剂×2 支	-20°C 保存	使用前每支加入 163 μL 试剂一充分溶解 (-20°C 分装可保存 2 周，避免反复冻融)
试剂三	液体 5 μL ×2 支	4°C 保存	使用前每支加入 125 μL 试剂一充分溶解 (-20°C 分装可保存 2 周，避免反复冻融)
试剂四	粉剂×2 瓶	-20°C 保存	使用前每瓶加入 12 mL 试剂五充分溶解 (-20°C 分装可保存 2 周，避免反复冻融)
试剂五	液体 25 mL×1 瓶	4°C 保存	-
检测工作液的制备（现用现配）：根据使用量按试剂二：试剂三：试剂四=1:1:90 的体积比配制，充分均匀即为检测工作液。			

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：酶标仪、96 孔 UV 板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1.待测样本的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①组织：称取 0.1 g 组织样本，加入 990 μL 提取液 A 和 10 μL 提取液 B，冰浴匀浆，4 $^{\circ}\text{C}$ 12000 g 离心 10 min，取上清液即为待测样本，置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集 500 万细菌或细胞，加入 990 μL 提取液 A 和 10 μL 提取液 B，冰浴超声破碎细菌或细胞（功率 200 W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次），4 $^{\circ}\text{C}$ 12000 g 离心 10 min，取上清即为待测样本，置于冰上待测。

③血清（浆）、培养液等液体样本：直接检测或适当稀释后再进行检测。

2.测定步骤

①酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 340 nm。

②试验前将检测工作液 37 $^{\circ}\text{C}$ （哺乳动物）或 25 $^{\circ}\text{C}$ （其它物种）预热 10 min。

③在 96 孔 UV 板中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)
检测工作液	205
待测样本	50

吸光值测定：充分混匀并立即开始计时，测定 20 s 时和 80 s 时 340 nm 处吸光值，分别记为 A1 和 A2；计算 $\Delta A = A_2 - A_1$ 。

3.乙酰辅酶 A 含量计算

①按组织样本质量计算

$$\text{乙酰辅酶 A 含量 (nmol/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}} \times D \times 10^9}{\epsilon \times d \times W \times V_{\text{样}}} = \frac{1639.9 \times \Delta A \times D}{W}$$

②按细菌或细胞数量计算

$$\text{乙酰辅酶 A 含量 (nmol/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}} \times D \times 10^9}{\epsilon \times d \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}}} = \frac{1639.9 \times \Delta A \times D}{\text{细菌或细胞数量}}$$

③按液体样本体积计算

$$\text{乙酰辅酶 A 含量 (nmol/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}} \times D \times 10^9}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}}} = 1639.9 \times \Delta A \times D$$

注释：V 反总：反应总体积， 2.55×10^{-4} L；V 提：待测样本总体积，1 mL；V 样：反应体系中加入待测样本的体积，0.05 mL；W：样本质量，g；细胞或细菌数量：以万计； ϵ ：NADH 摩尔消光系数： 6.22×10^3 L/mol/cm；d：96 孔 UV 板光径，0.5 cm； 10^9 ：单位换算系数，1 mol/mL= 10^9 nmol/mL；D：待测样本稀释倍数，若未稀释则为 1。

四、注意事项

①准确在 20 s 和 80 s 处完成吸光值的测定，以确保实验结果的准确性和重复性；若同时测定多个样本时需使用**多道移液器**且分批进行检测，以确保组间反应时间一致；

②为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

