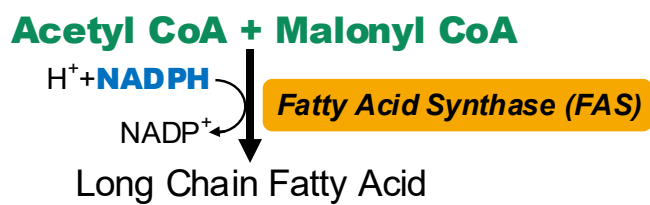




脂肪酸合成酶 (FAS) 活性检测试剂盒

Fatty Acid Synthase (FAS) Activity Assay Kit



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



脂肪酸合成酶（FAS）活性检测试剂盒

Fatty Acid Synthase (FAS) Activity Assay Kit

一、产品描述

脂肪酸合成酶（FAS）是催化内源性长链脂肪酸合成的关键酶，可催化乙酰 CoA 和丙二酰 CoA 生成长链脂肪酸，进一步参与能量储存、细胞及生物膜的合成、蛋白质酰化反应和转导信号等，在脂肪组织重变异及相关性状变异中起着重要作用。

脂肪酸合成酶能够催化乙酰 CoA、丙二酰 CoA 和 NADPH 反应生成长链脂肪酸和 NADP⁺，NADPH 在 340 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值的下降速率即可表征脂肪酸合成酶的活性。

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	液体 110 mL×1 瓶	-20°C 保存	使用前置于 4°C 充分解冻 (充分混匀后使用)
试剂一	粉剂×1 瓶	-20°C 避光保存	使用前加入 550 μL 试剂三充分溶解 (分装后-20°C 可保存 2 周，避免反复冻融)
试剂二	粉剂×1 瓶	-20°C 避光保存	使用前加入 550 μL 试剂三充分溶解 (分装后-20°C 可保存 2 周，避免反复冻融)
试剂三	液体 30 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂四	粉剂×2 瓶	-20°C 避光保存	使用前每瓶加入 1050 μL 试剂三充分溶解 (分装后-20°C 可保存 2 周，避免反复冻融)

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. 粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，4°C 15000 g 离心 20 min，取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞:离心收集细菌或细胞到离心管内,按照细菌或细胞数量(10^4 个):提取液体积(mL)为(500-1000):1的比例(建议500万细菌或细胞加入1 mL提取液)处理样品,冰浴超声破碎(功率300 W,超声3 s,间隔7 s,总时间3 min),4℃ 15000 g离心20 min,取上清置于冰上待测。

③血清、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试验前将试剂三置于37℃预热30 min。

③在96孔UV板中依次加入下列试剂:

试剂	测定组 (μL)	空白组 (μL)
粗酶液	20	-
蒸馏水	-	20
试剂一	4	4
试剂二	4	4
试剂三	164	164
试剂四	8	8

吸光值测定:①充分混匀并立即开始计时,测定30 s时(总时间)340 nm处吸光值,记为A1测定和A1空白;②37℃恒温准确反应600 s,测定630 s(总时间)时340 nm处吸光值,记为A2测定和A2空白;③计算 ΔA 测定=A1测定-A2测定, ΔA 空白=A1空白-A2空白, $\Delta A = \Delta A$ 测定- ΔA 空白。注:空白组只需测定1-2次。

3.脂肪酸合成酶(FAS)活性计算

①按组织蛋白浓度计算

单位定义:每mg组织蛋白每分钟氧化1 nmol NADPH定义为一个酶活力单位。

$$\text{FAS (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{321.54 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义:每g组织每分钟氧化1 nmol NADPH定义为一个酶活力单位。

$$\text{FAS (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{321.54 \times \Delta A}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义每 10^4 个细菌或细胞每分钟氧化 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{FAS (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{321.54 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：37°C条件下，每 mL 样本每分钟氧化 1 nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{FAS (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times T} = 321.54 \times \Delta A$$

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.02 mL；V 反总：反应体系总体积， 2×10^{-4} L；V 样总：粗酶液总体积，1 mL； ϵ ：NADPH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm；d：96 孔 UV 板光径，0.5 cm；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样品质量，g；细菌或细胞数量：以万计，若 500 万细菌或细胞则代入 500 即可；T：酶促反应时间，10 min。

四、注意事项

①若 A1 测定大于 1.2 或 ΔA 大于 0.5，建议将粗酶液使用提取液适当稀释后再进行测定；若 ΔA 小于 0.02，建议适当延长酶促反应时间（37°C准确反应时间，可延长至 30-60 min）或适当增加样本量后再进行测定，计算时相应修改；

②因提取液中含有干扰蛋白检测组分，提取后粗酶液不能用于蛋白含量的测定，应另取组织使用 PBS 或生理盐水单独提取后再进行测定；

③准确在规定时间点完成吸光值的测定，以保证实验结果准确性和重复性；若样本较多时应使用多道移液器且分批完成测定，以确保组间反应时间一致；

④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.

Liaodong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

