Acetyl Coenzyme A Content Assay Kit

乙酰辅酶 A（Acetyl-CoA）含量测定试剂盒说明书

货号：BN72666 | 方法：微板法 | 规格：48 样

一、产品简介：

乙酰辅酶 A 是能源物质代谢的重要中间代谢产物，在体内能源物质代谢中是一个枢纽性的物质。糖、脂肪、蛋白质三大营养物质通过乙酰辅酶 A 汇聚成一条共同的代谢通路--三羧酸循环和氧化磷酸化，经过这条通路彻底氧化生成二氧化碳和水，释放能量用以 ATP 的合成。它也是合成脂肪酸、酮体、胆固醇及其衍生物等生理活性物质的前体物质。

苹果酸脱氢酶可催化苹果酸和 NAD^+生成草酰乙酸和 NADH。柠檬酸合酶可催化乙酰辅酶 A 和草酰乙酸生成柠檬酸和辅酶 A。利用苹果酸脱氢酶和柠檬酸合酶的偶联反应，乙酰辅酶 A 含量和 NADH 的生成量成正比，340nm 下吸光值的上升量反应了乙酰辅酶 A 含量的高低。

二、试剂盒的组成和配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 60mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 10mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	粉体 mg×1 瓶	-20℃保存	用前甩几下或离心使试剂落入底部，再加 4.5mL 试剂一溶解备用。
试剂三	粉体 mg×1 瓶	4℃保存	用前甩几下或离心使试剂落入底部，再加 4.5mL 试剂一溶解备用。
试剂四	粉体 mg×1 支	-20℃保存	用前甩几下使试剂落入底部，再加 0.6mL 蒸馏水溶解备用。

三、所需的仪器和用品：

酶标仪、96 孔板、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水。

四、乙酰辅酶 A 含量测定：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本制备：

① 组织样本：

称取约 0.1g 组织样本，加 1mL 的提取液，进行冰浴匀浆，粗提液全部转移到 EP 管中，12000rpm，4℃离心 10min，上清液待测。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量(g)：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例提取。

2、上机检测：

① 酶标仪预热 30min，设定波长至 340nm。

② 试剂解冻至室温（25℃），在 96 孔板中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管
样本	20
试剂二	85
试剂三	85
混匀，室温（25℃）下，5min 后于 340nm 处读取 A1 值。	
试剂四	10
混匀，室温（25℃）下，反应 10min 后于 340nm 处读取吸光值 A2，ΔA=A2-A1。	

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、按照样本质量计算：

乙酰辅酶 A 含量(nmol/g 鲜重)=[ΔA÷ε÷d×V2×10^9]÷(W×V1÷V)=3215×ΔA÷W

ε---NADH 摩尔消光系数，6220 L/mol/cm；
d---96 孔板光径，0.5cm；
V---提取液体积，1 mL；
V1---加入样本体积，20μL=0.02mL；
V2---反应体系总体积，200μL=2×10^{-4}L；
W---样品质量，g。