Acetyl CoA carboxylase Assay Kit

乙酰辅酶 A 羧化酶(ACC)试剂盒说明书

货号：BN72670 | 方法：微板法 | 规格：48 样

一、产品简介：

乙酰辅酶A羧化酶（ACC，EC 6.4.1.2）广泛存在于生物界。在生物体内催化乙酰辅酶A羧化生成丙二酰辅酶A，是脂肪酸和许多次生代谢产物合成的关键酶。ACC的活性在一定程度上决定了脂肪酸的合成速度和含油量的高低。

ACC 催化乙酰辅酶 A、$NaHCO_3$ 和 ATP 生成丙二酰辅酶 A、ADP 和无机磷，通过钼酸铵定磷法测定无机磷的增加量来测定 ACC 酶活性大小。

二、试剂盒组成和配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	提取液 60mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 20mL ×1 瓶	4℃保存	
试剂二	粉体 mg×1 支	-20℃保存	用前甩几下使试剂落入底部，再加 0.55mL 蒸馏水，混匀溶解备用。
试剂三	液体 4mL×1 瓶	4℃保存	
试剂四	A:粉体 mg×1 瓶 B:液体 2mL×1 瓶	4℃保存	临用前加 1.8mL 的 B 液，再加 23.2mL 的蒸馏水，混匀溶解备用。
标准品	粉体 mg ×1 支	4℃保存	若重新做标曲，则用到该试剂。

【注】：全程操作需无磷环境；试剂配置用新枪头和玻璃移液器等，也可用一次性塑料器皿，避免磷污染。

三、所需的仪器和用品：

酶标仪、96 孔板、台式离心机、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水。

四、乙酰辅酶 A 羧化酶（ACC）活性测定：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品和实验流程，避免样本和试剂浪费！

1、样本制备：

① 组织样本：称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液，进行冰浴匀浆。12000rpm×4℃离心 15min，取上清，置冰上待测。

【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 细胞样本：先收集细胞到离心管内，离心后弃上清；取 500 万细胞加入 1mL 提取液；超声波破碎细胞（冰浴，功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；12,000rpm×4℃离心 10min，取上清作为待测样品。

【注】：若增加样本量，可按照细菌/细胞数量（10^4）：提取液（mL）为 500~1000：1 的比例进行提取。

③ 液体样本：直接检测；若浑浊，12000rpm×4℃离心 15min，离心后取上清检测。

2、上机检测：

① 酶标仪预热 30min 以上，设置温度 37℃，调节波长至 700nm。

② 试剂放在 37℃水浴 5min；在 EP 管中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管	对照管
试剂一	190	200
样本	100	100
试剂二	10	

37℃ 孵育 30min		
试剂三	40	40
混匀，12000rpm，4℃离心 5min，上清液待测。		

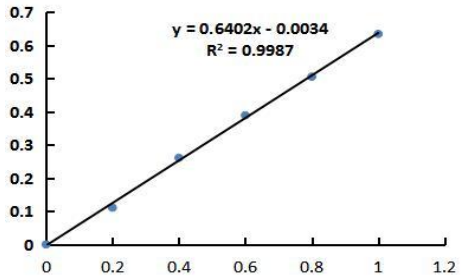
④ 显色反应，在 96 孔板中依次加入：

上清液	50	50
试剂四	200	200
混匀，室温静置 3min，700nm 下读取各管吸光值，△A=A 测定-A 对照（每个样本做一个自身对照）。		

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、标准曲线方程：y = 0.6402x - 0.0034，x 是标准品摩尔质量（μmol/mL），y 是△A。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

2、按蛋白浓度计算：

定义：每小时每毫克组织蛋白分解 ATP 产生 1μmol 无机磷的量为一个酶活力单位。

酶活力(μmol/h/mg prot)=[(△A+0.0034)÷0.6402×V2]÷(V1×Cpr)÷T=10.62×(△A+0.0034)÷Cpr

3、按样本鲜重计算：

定义：每小时每克组织分解 ATP 产生 1μmol 无机磷的量为一个酶活力单位。

酶活力(μmol/h/g 鲜重)=[(△A+0.0034)÷0.6402×V2]÷(W×V1÷V)÷T=10.62×(△A+0.0034)÷W

4、按细菌或细胞密度计算：

定义：每小时每 1 万个细菌或细胞分解 ATP 产生 1μmol 无机磷的量为一个酶活力单位。

酶活力(μmol/h /10^4 cell)=[(△A+0.0034)÷0.6402×V2]÷(500×V1÷V)÷T=0.021×(△A+0.0034)

5、按液体体积计算：

定义：每毫升液体样本每小时分解 ATP 产生 1μmol 无机磷的量为一个酶活力单位。

酶活力(μmol/h/mL 液体)=[(△A+0.0034)÷0.6402×V2]÷V1÷T=10.62×(△A+0.0034)

V---加入提取液体积，1mL； V1---加入样本体积，0.1mL； V2---酶促反应总体积，0.34mL；

T---反应时间，1/2 小时； W---样本鲜重，g； 500---细菌或细胞总数，万；

Cpr---样本蛋白质浓度，mg/mL；建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。