

脂肪酸合成酶（FAS）活性检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1478

产品规格：100管/96样

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。

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。

产品内容：

试剂一：液体×1瓶，-20℃保存。用前1d取出置于4℃充分解冻后混匀。

试剂二：粉剂×1瓶。临用前加入440 μL试剂四，充分溶解。

试剂三：粉剂×1瓶，4℃保存。临用前加入440 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840 μL试剂四，充分溶解。

需自备的仪器和用品：

研钵、冰、台式离心机、紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96孔板、可调式移液枪和蒸馏水。

操作步骤（仅供参考）：

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（10⁴个）：提取液体积（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340nm，蒸馏水调零。
2. 试剂四置于40℃水浴中预热30min以上。
3. 空白管：在500 μL LEP管中依次加入20 μL蒸馏水、4 μL试剂二、4 μL试剂三、164 μL试剂四和8 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。ΔA空=A1-A2。
4. 测定管：在500 μL LEP管中依次加入20 μL上清液、4 μL试剂二、4 μL试剂三、164 μL试剂四和8 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。ΔA测=A3-A4。

三、FAS活性计算：

使用微量石英比色皿测定的计算公式如下：

（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1 μmol NADPH为1U。

$$\text{FAS(U/mg prot)} = [(\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \times 10^6] \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T$$
$$= 1.61 \times (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div C_{\text{pr}}$$



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

(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1 μmol NADPH为1U。

$$\text{FAS(U/g)} = [(\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div \varepsilon \div d \times V_{\text{反总}} \times 10^6] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T$$
$$= 1.61 \times (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div W$$

(3) 按细胞数量计算

活性单位定义：37℃中每10⁴个细胞每分钟氧化1 μmol NADPH为1U。

$$\text{FAS(U/10}^4\text{cell)} = [(\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div \varepsilon \div d \times V_{\text{反总}} \times 10^6] \div (\text{细胞数量} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T$$
$$= 1.61 \times (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div \text{细胞数量}$$

ε：NADPH摩尔消光系数，6.22×10³L/mol/cm；d：比色皿光径，1cm；V反总：反应体系总体积，200 μL=2×10⁻⁴L；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，20 μL=0.02mL；T：反应时间，1min。

使用96孔板测定的计算公式如下：

(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1 μmol NADPH为1U。

$$\text{FAS(U/mg prot)} = [(\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div \varepsilon \div d \times V_{\text{反总}} \times 10^6] \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div T$$
$$= 3.22 \times (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div \text{Cpr}$$

(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1 μmol NADPH为1U。

$$\text{FAS(U/g)} = [(\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div \varepsilon \div d \times V_{\text{反总}} \times 10^6] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T$$
$$= 3.22 \times (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div W$$

(3) 按细胞数量计算

活性单位定义：37℃中每10⁴个细胞每分钟氧化1 μmol NADPH为1U。

$$\text{FAS(U/10}^4\text{ cell)} = [(\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div \varepsilon \div d \times V_{\text{反总}} \times 10^6] \div (\text{细胞数量} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T$$
$$= 3.22 \times (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div \text{细胞数量}$$

ε：NADPH摩尔消光系数，6.22×10³L/mol/cm；d：96孔板光径，0.5cm；V反总：反应体系总体积，200 μL=2×10⁻⁴L；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，20 μL=0.02mL；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。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com