

## 乙酰辅酶A含量检测试剂盒（紫外分光光度法）

产品货号：BA1441

产品规格：50管/48样

### 产品简介：

乙酰辅酶A广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中。是生物体能源物质代谢过程中产生的一种重要的中间代谢产物。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，释放能量用于ATP合成。此外，乙酰辅酶A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的生成速率成正比，340nm下吸光值的上升速率反应了乙酰辅酶A含量的高低。

### 试验中所需的仪器和试剂：

紫外分光光度计、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、1mL石英比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

### 产品组成：

试剂一：液体50mL×1瓶，4℃保存。

试剂二：粉剂×1支，-20℃保存。临用前加入50μL试剂五充分溶解备用；用不完的试剂分装后-20℃保存，禁止反复冻融。

试剂三：液体20μL×1支，4℃保存。临用前加入500μL试剂五充分溶解备用；用不完的试剂分装后-20℃保存，禁止反复冻融。

试剂四：粉剂×1瓶，-20℃保存。临用前加入45mL试剂五充分溶解备用；用不完的试剂分装后-20℃保存，禁止反复冻融。

试剂五：液体60mL×1瓶，4℃保存。

工作液的配制：临用前请根据拟用工作液体积（样本数×0.92mL）将试剂二、三和四按照1:1:90的比例混合，或者直接把试剂二和试剂三加入到试剂四中混匀（可以测定48样）；加样前置37℃（哺乳动物）或25℃（其它物种）水浴锅中预热30min；现配现用。

### 自备材料：

紫外分光光度计、恒温水浴锅、台式离心机、可调式移液器、1mL石英比色皿、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

### 操作步骤（仅供参考）：

#### 一、乙酰辅酶A的提取

1. 细菌或培养细胞：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照细菌或细胞数量（ $10^4$ 个）：试剂一体积（mL）为500~1000：1的比例（建议500万细菌或细胞加入1mL试剂一），超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率20%或200W，超声3s，间隔10s，重复30次）；8000g 4℃离心10min，取上清，置冰上待测。
2. 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。8000g 4℃离心10min，取上清，置冰上待测。

#### 二、测定操作表：

1. 分光光度计预热30min，用蒸馏水于340nm处调零。



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. 取920 $\mu$ L工作液和100 $\mu$ L样本至1mL石英比色皿，混匀，立即记录340nm处20s的吸光值A1和80s时的吸光值A2，计算 $\Delta A=A_2-A_1$ 。

### 三、乙酰辅酶A含量计算

标准条件下测定的回归方程为 $y=1640x+0.012$ ；x为吸光值，y为标准品浓度（nmol/mL）。

注意：本试剂盒最低检测限为1.6nmol/mL。

（1）按照蛋白浓度计算

乙酰辅酶A含量(nmol/mg prot)=[(1640 $\times$  $\Delta A$ +0.012) $\times V_1$ ] $\div$ (V1 $\times$ Cpr)=(1640 $\times$  $\Delta A$ +0.012) $\div$ Cpr需要另外测定，建议使用本公司BCA蛋白质含量测定试剂盒。

（2）按照样本质量计算

乙酰辅酶A含量(nmol/g鲜重)=[(1640 $\times$  $\Delta A$ +0.012) $\times V_1$ ] $\div$ (W $\times V_1 \div V_2$ )=(1640 $\times$  $\Delta A$ +0.012) $\div$ W

（3）按照细菌或细胞密度计算：

乙酰辅酶A含量(nmol/10<sup>4</sup>)=[(1640 $\times$  $\Delta A$ +0.012) $\times V_1$ ] $\div$ (500 $\times V_1 \div V_2$ )=(1640 $\times$  $\Delta A$ +0.012) $\div$ 500

V1：加入反应体系中样本体积，0.1mL；V2：加入提取液体积，1mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；500：细胞或细菌总数，500万。



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>