

ATP-柠檬酸裂解酶 (ACL) 活性检测试剂盒 (微量法)

产品货号: BA1921

产品规格: 100T/96S

产品简介:

ATP-柠檬酸裂解酶 (ATP-citrate lyase, ACL) 是催化柠檬酸生成乙酰辅酶A的关键胞质酶, 其催化产生的乙酰辅酶A是合成脂肪酸与胆固醇等脂类物质的主要原料, 并可参与相关重要蛋白的修饰作用, 是体内能源物质代谢的枢纽性物质。

在ATP和辅酶A存在的情况下, ACL能将柠檬酸催化裂解为乙酰辅酶A、草酰乙酸、ADP和磷酸盐, 苹果酸脱氢酶进一步催化草酰乙酸和NADH生成苹果酸和NAD⁺, 导致340nm处光吸收下降。

注意: 实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品组成:

试剂名称	规格	保存条件
提取液一	液体100mL×1瓶	2-8℃
提取液二	液体1mL×1支	-20℃
试剂一	液体30mL×1瓶	2-8℃
试剂二	粉剂×1支	-20℃
试剂三	粉剂×1瓶	-20℃
试剂四	粉剂×1支	-20℃
试剂五	液体15μL×1支	2-8℃

溶液的配制:

1. 试剂二: 临用前加入500μL试剂一, 充分溶解待用; 可分装后-20℃保存, 避免反复冻融;
2. 试剂三: 临用前加入2mL试剂一, 充分溶解待用; 可分装后-20℃保存, 避免反复冻融;
3. 试剂四: 临用前加入0.5mL试剂一, 充分溶解待用; 可分装后-20℃保存, 避免反复冻融;
4. 试剂五: 临用前加入0.5mL试剂一, 充分溶解待用; 可分装后-20℃保存, 避免反复冻融;
5. 提取液的配制: 按提取液一: 提取液二=990: 10 (V: V) 的比例配制, 根据样本量现配现用, **禁止将提取液二一次性全部加入提取液一混匀分装待用。**

需自备的仪器和用品:

紫外分光光度计/酶标仪、天平、台式低温离心机、微量石英比色皿/96孔板、可调式移液枪、研钵/匀浆器、水浴锅、冰盒。

操作步骤:

一、样本处理 (可适当调整待测样本量, 具体比例可以参考文献)

1. 组织: 按照质量 (g) : 提取液体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g, 加入 1mL 提取液) 进行冰浴匀浆。于 4℃, 8000g 离心 10min, 取上清, 置于冰上待测。
2. 细胞或细菌: 按照细胞或细菌数量 (10⁴个) : 提取液体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细胞或细菌加入 1mL 提取液), 冰浴超声波破碎细胞或细菌 (功率 300w, 超声 3 秒, 间隔 7 秒, 总时间 3min), 于 4℃, 8000g 离心 10min, 取上清, 置于冰上待测。



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

3. 血清（浆）或其他液体：直接检测。

二、测定步骤

1. 分光光度计/酶标仪预热30min以上，波长调至340nm，蒸馏水调零。
2. 将试剂一置于37℃（哺乳动物）或25℃（其它物种）水浴10min。
3. 操作表（在微量石英比色皿/96孔UV板中依次加入下列试剂）：

试剂名称（ μL ）	测定管	空白管
试剂一	161	161
试剂二	4	4
试剂三	20	20
试剂四	4	4
试剂五	1	1
样本	10	-
蒸馏水	-	10

在微量石英比色皿/96孔UV板中分别加入上述试剂，充分混匀后于340nm处测定10s时的吸光值A1，迅速置于37℃水浴/25℃（其它物种）或培养箱2min（酶标仪有控温功能可将温度调至37℃），拿出迅速擦干测定130s时的吸光值A2，计算 $\Delta A_{\text{测定管}} = A1_{\text{测定}} - A2_{\text{测定}}$ ， $\Delta A_{\text{空白管}} = A1_{\text{空白}} - A2_{\text{空白}}$ ， $\Delta A = \Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}$ （空白管只需做1-2次）。

注意：如果样本量大，可按试剂一：试剂二：试剂三：试剂四：试剂五=161：4：20：4：1的比例配制成工作液使用，工作液应根据样本量现配现用。

二、ACL活性计算

A、按微量石英比色皿计算：

1. 按样本蛋白浓度计算

单位定义：每mg蛋白每分钟消耗1nmol NADH定义为一个酶活力单位

$$\text{ACL活性 (U/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \div (\epsilon \times d)] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 1607.7 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

2. 按样本质量计算

单位定义：每g组织每分钟消耗1nmol NADH定义为一个酶活力单位。

$$\text{ACL活性 (U/g 质量)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \div (\epsilon \times d)] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 1607.7 \times \Delta A \div W$$

3. 按照细胞数量计算

单位定义：每1万个细胞或细菌每分钟消耗1nmol NADH定义为一个酶活力单位。

$$\text{ACL活性 (U/10}^4 \text{ cell)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \div (\epsilon \times d)] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 3.215 \times \Delta A$$

4. 按液体体积计算

单位定义：每mL液体每分钟消耗1nmol NADH定义为一个酶活力单位。

$$\text{ACL (U/mL)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \div (\epsilon \times d)] \div V_{\text{样}} \div T = 1607.7 \times \Delta A$$

V反总：反应总体积， $2 \times 10^{-4} \text{L}$ ； 10^9 ：单位换算系数， $1 \text{mol} = 10^9 \text{nmol}$ ； ϵ ：NADH摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$ ；

d：比色皿光径，1cm；V样：加入样本体积，0.01mL；V样总：加入提取液体积，1mL；Cpr：蛋白浓度，mg/mL，蛋白浓度自行测定；W：样本质量，g；500：细胞或细菌数量，500万；T：反应时间，2min

B、按照96孔UV板计算

将将上述公式中的d-1cm改为d-0.6cm（96孔板光径）进行计算即可。



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