

脂肪酸合成酶（FAS）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1019

保存：-20℃避光保存 6 个月

规格：48T/96T

适用样本：血清（浆）、动植物组织、细胞

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。本试剂盒可检测生物体内 FAS 活性，其原理是：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

试剂盒组分	规格		储存条件
	48 T	96 T	
提取液	50mL	100mL	-20℃ 保存
试剂一	10mL	20mL	4℃ 保存
试剂二	1	1	-20℃ 保存
试剂三	1	1	-20℃ 保存
试剂四	1	1	-20℃ 保存

自备耗材

酶标仪或紫外分光光度计（能测 340nm 处的吸光度）
恒温箱、制冰机、低温离心机
96 孔 UV 微孔板或微量石英比色皿、可调节式移液枪及枪头
去离子水
匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

提取液：即用型；用前一天取出置于 4℃ 充分解冻后混匀，平衡到室温；-20℃ 保存。

试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 保存。

试剂二：临用前 96T 加入 1.64mL 试剂一，48T 加入 0.82mL 试剂一，充分混匀待用。用不完的试剂分装后-20℃ 保存，禁止反复冻融。

试剂三：临用前 96T 加入 0.44mL 试剂一，48T 加入 0.22mL 试剂一，充分混匀待用。用不完的试剂分装后-20℃ 保存，禁止反复冻融。

试剂四：临用前 96T 加入 0.84mL 试剂一，48T 加入 0.42mL 试剂一，充分混匀待用。用不完的试剂分装后-20℃ 保存，禁止反复冻融。

工作液的配制：每孔配制 180μL 工作液：吸取 16μL 溶解后的试剂二，4μL 溶解后的试剂三，8μL 溶解后的试剂四和 152μL 试剂一。工作液需现配现用，根据需要测定的样本数按比例配制。

样本制备

产品说明书

动物组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆，12,000g，4℃离心 40min，取上清液，置冰上待测。

植物组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液捣碎，冰浴超声波破碎细胞 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），然后 12,000g，4℃离心 40min，取上清液，置冰上待测。

细胞：收集 500 万细胞到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞，离心后弃上清，加入 1mL 提取液，冰浴超声波破碎细胞 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），然后 12,000g，4℃离心 40min，取上清液，置冰上待测。

1. 血清（浆）等液体样本：直接测定。

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。对于脂肪含量较高的动物组织，离心后移除上层脂肪，再取上清液。如需测定蛋白浓度，推荐使用 Bradford 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

1. 酶标仪或紫外分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 340nm。紫外分光光度计去离子水调零。

2. 恒温箱预热到 37℃，工作液置于恒温箱中预热 15min 以上。

3. 在 96 孔 UV 微孔板或微量石英比色皿中依次加入 20 μL 样本和 180 μL 工作液，迅速混匀，测定 340nm 处吸光值。记录第 1min 和 6min 时吸光值，分别记录为 A_1 和 A_2 。 $\Delta A = A_1 - A_2$ 。

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 ΔA 小于 0.005 可适当加大样本量。如果 ΔA 大于 0.4，样本可用提取液进一步稀释（计算结果乘以稀释倍数），或减少提取用样本量。

结果计算

A. 使用 96 孔板测定的计算公式

1. 按照蛋白浓度计算

活性单位定义：每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟氧化 1nmol NADPH 为 1 个酶活单位。

FAS 酶活 (U/mg prot) = $[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T \times n = 643 \times \Delta A \div C_{\text{pr}} \times n$

2. 按照样本质量计算

活性单位定义：每 g 组织在反应体系中每分钟氧化 1nmol NADPH 为 1 个酶活单位。

FAS 酶活 (U/g 鲜重) = $[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \times n = 643 \times \Delta A \div W \times n$

3. 按细胞数量计算

活性单位定义：每 10^4 个细胞在反应体系中每分钟氧化 1nmol NADPH 为 1 个酶活单位。

FAS 酶活 (U/ 10^4 cells) = $[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \times n = 1.286 \times \Delta A \times n$

4. 按液体体积计算

活性单位定义：每 mL 样本在反应体系中每分钟氧化 1nmol NADPH 为 1 个酶活单位。

FAS 酶活 (U/mL) = $[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T \times n = 643 \times \Delta A \times n$

ϵ ：试剂二摩尔消光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm； d ：96 孔板光径，0.5 cm； $V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积，L， $200 \mu\text{L} = 2 \times 10^{-4}$ L； 10^9 ：1 mol = 1×10^9 nmol； C_{pr} ：蛋白浓度，mg/mL； $V_{\text{样}}$ ：加入上清液体积，0.02 mL； T ：反应时间，5min； n ：样本稀释倍数； W ：样品质量，g； $V_{\text{样总}}$ ：提取液体积，1 mL；500：细胞总数，500 万。

B. 使用微量石英比色皿测定的计算公式

将上述计算公式中的光径 d : 0.5 cm 调整为 d : 1 cm 进行计算即可。

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

PMK1142 甘油三酯 (TG) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1143 总胆固醇 (TC) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1144 游离胆固醇 (FC) 检测试剂盒 (微量法)

产品说明书

PMK1137 游离脂肪酸 (FFA) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1151 血清高密度脂蛋白 (HDL-C) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1152 血清低密度脂蛋白 (LDL-C) 检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解, 请关注公众号:

