

# ATP-柠檬酸裂解酶（ACL）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1150

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、真菌

## 产品简介

ATP-柠檬酸裂解酶（ATP-citrate lyase, ACL; EC4.1.3.8）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。可用于脂肪酸合成和碳链延长、黄酮类物质合成、氨基酸合成等，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。试剂盒提供了一种简单的比色法来检测生物样本中 ACL 活性，其原理是 ACL 在 ATP 和辅酶 A 存在的情况下催化柠檬酸裂解为乙酰辅酶 A、草酰乙酸、腺苷二磷酸和磷酸盐。苹果酸脱氢酶进一步催化草酰乙酸和 NADH 生成苹果酸和 NAD<sup>+</sup>，NADH 在 340nm 处有特征吸收峰，NADH 的消耗引起 340nm 吸光度下降，在 340nm 测定 NADH 减少速率，计算 ACL 活性。

## 产品内容

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

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

恒温箱、低温离心机、制冰机

去离子水

匀浆器（如果是组织样本）

## 试剂准备

**注意：各组分（小管试剂）开盖前，请先低速离心。**

提取液：即用型；4℃ 保存。

试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 保存。

工作液的配置：将试剂二和试剂三转移至试剂一中，充分混合溶解。用不完的试剂分装-20℃ 保存，避免反复冻融（注意：可取少量试剂一至试剂二和试剂三中，充分混匀溶解后转移至试剂一瓶中，重复 2-3 遍）。

## 样本制备

组织：称取 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆，8,000g，4℃ 离心 10min，取上清液，置冰上待测。

细胞或真菌：收集 500 万细胞或真菌到离心管内，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或真菌 5min（功率 20% 或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），然后 8,000g，4℃ 离心 10min，取上清液，置冰上待测。

血清（浆）等液体样本：直接测定。

## 产品说明书

**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。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. 酶标仪或可见分光光度计预热30min以上，调节波长到340nm，可见分光光度计去离子水调零。
2. 将工作液在37℃(哺乳动物)或25℃(其它物种)预热10分钟。
3. 样本测定：在96孔UV微孔板或微量石英比色皿中加入10μL样本和190μL工作液，混匀，立即记录340nm处20s时的吸光值A<sub>1</sub>和2min20s后的吸光值A<sub>2</sub>，计算ΔA=A<sub>1</sub>-A<sub>2</sub>。

**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0.001可适当加大样本量。如果A<sub>测定</sub>大于0.5，样本可用提取液适当稀释，计算结果乘以稀释倍数。**

### 结果计算

A. 用96孔板测定的计算公式如下：

1. 按样本鲜重计算：

单位的定义：每g组织在反应体系中每分钟消耗1nmol NADH定义为一个酶活力单位U。

$$ACL(U/g \text{ 鲜重}) = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 3215 \times \Delta A \div W$$

2. 按液体体积计算：

单位的定义：每mL液体样本在反应体系中每分钟消耗1nmol NADH定义为一个酶活力单位U。

$$ACL(U/mL) = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 3215 \times \Delta A$$

3. 按细胞或真菌数量计算：

单位的定义：每1万个细胞或真菌在反应体系中每分钟消耗1nmol NADH定义为一个酶活力单位U。

$$ACL(U/10^4 \text{ Cells}) = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 6.43 \times \Delta A$$

4. 按样本蛋白浓度计算：

单位的定义：每mg组织蛋白在反应体系中每分钟消耗1nmol NADH定义为一个酶活力单位U。

$$ACL(U/mg \text{ prot}) = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times Cpr) \div T = 3215 \times \Delta A \div Cpr$$

V<sub>反应</sub>：反应体系总体积，2×10<sup>-4</sup> L；ε：NADH摩尔消光系数，6.22×10<sup>3</sup> L/mol/cm；d：96孔板光径，0.5cm；10<sup>9</sup>：1 mol=10<sup>9</sup> nmol；V<sub>样</sub>：加入样本体积，0.01mL；V<sub>样总</sub>：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，2min；W：样本质量，g；500：细菌或细胞总数，500万个；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL。

B. 使用微量石英比色皿测定的计算公式

将上述计算公式中光径d：0.5cm调整为d：1cm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：

PMK1019 脂肪酸合成酶(FAS)检测试剂盒(微量法)

PMK1137 游离脂肪酸(FFA)检测试剂盒(微量法)

PMK1138 脂肪酶(LPS)检测试剂盒(微量法)

PMK1141 肝脂酶(HL)检测试剂盒(微量法)

PMK1149 脂蛋白酯酶(LPL)检测试剂盒(微量法)

更多产品详情了解，请关注公众号：

