



ATP-柠檬酸裂解酶活性检测试剂盒

ACL Assay Kit

微量法

产品编号: AK483M

产品规格: 100T/96S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
ES483	100mL×1 瓶	4℃保存;
AK483-A	20mL×1 瓶	4℃保存;
AK483-B	粉剂×1 瓶	-20℃保存;
AK483-C	粉剂×1 支	4℃保存;

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

意义: ATP-柠檬酸裂解酶 (ATP-citrate lyase, ACL; EC4.1.3.8) 是脂肪酸合成中的关键酶, 其催化产生的乙酰辅酶 A 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。

原理: 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⁺, 在 340nm 测定 NADH 减少速率, 计算 ACL 活性。

自备用品:

紫外分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅、移液器、微量石英比色皿/96 孔板 (UV 板)、研钵、冰和蒸馏水。

样本的前处理:

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 (10⁴ 个): 提取液体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1mL ES483), 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): 提取液体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL ES483), 进行冰浴匀浆; 于 4℃, 8000g 离心 10min, 取上清, 置于冰上待测。
3. 血清 (浆) 或其他液体: 直接检测。

测定步骤:

1. 分光光度计或酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 340nm, 蒸馏水调零。
2. 工作液的配置: 将 AK483-B 和 AK483-C 转移至 AK483-A 中, 充分混合溶解, 置于 37℃ (哺乳动物) 或 25℃ (其它物种) 水浴 5min; (注意: 可取少量 AK483-A 至 AK483-B 和 AK483-C 中, 充分混匀溶解后转移至试剂 A 瓶中, 重复 2-3 遍); 用不完的试剂分装后-20℃保存, 禁止反复冻融。
3. 样本测定 (在微量石英比色皿或 96 孔板中加入)

试剂名称	测定管 (ul)
样本	10
工作液	190
混匀, 立即记录 340nm 处 20s 时的吸光值 A1 和 2min 20s 后的吸光值 A2, 计算 $\Delta A = A1 - A2$ 。	

ACL 活性计算:

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

1. 血清 (浆) ACL 活力计算:

单位定义: 每毫升血清 (浆) 每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$ACL (U/mL) = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 1608 \times \Delta A$$

2. 组织、细菌或细胞中 ACL 活力计算

(1) 按样本蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟消耗 1nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$ACL (U/mg \text{ prot}) = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times Cpr) \div T = 1608 \times \Delta A \div Cpr$$

(2) 按样本鲜重计算

单位定义：每 g 组织每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$ACL (U/g \text{ 鲜重}) = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 1608 \times \Delta A \div W$$

(3) 按细菌或细胞密度计算

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

$$ACL (U/10^4 \text{ cell}) = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 3.216 \times \Delta A$$

注： V 反总：反应体系总体积， 2×10^{-4} 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，0.01 mL；V 样总：加入提取液体积，1 mL；T：反应时间，2 min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；500：细菌或细胞总数，500 万。

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

1. 血清（浆）ACL 活力计算

单位定义：每毫升血清（浆）每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$ACL (U/mL) = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 3216 \times \Delta A$$

2. 组织、细菌或细胞中 ACL 活力计算

(1) 按样本蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟消耗 1nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$ACL (U/mg \text{ prot}) = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times Cpr) \div T = 3216 \times \Delta A \div Cpr$$

(2) 按样本鲜重计算

单位定义：每 g 组织每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$ACL (U/g \text{ 鲜重}) = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 3216 \times \Delta A \div W$$

(3) 按细菌或细胞密度计算

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

$$ACL (U/10^4 \text{ cell}) = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 6.432 \times \Delta A$$

注： V 反总：反应体系总体积， 2×10^{-4} 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：96 孔板光径，0.5cm；V 样：加入样本体积，0.01 mL；V 样总：加入提取液体积，1 mL；T：反应时间，2 min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；500：细菌或细胞总数，500 万。

※ 蛋白定量检测建议使用本公司：BCA Protein Assay Kit ([C05-02001](#))