



## 乙酰辅酶 A 羧化酶活性检测试剂盒

### ACC Assay Kit

微量法

**产品编号:** AK482M

**产品规格:** 100T/48S

**产品组成及保存条件:**

编号	规格	储存条件
ES482	100mL×1 瓶	4℃保存
AK482-A	10mL×1 瓶	4℃保存
AK482-B	粉剂×1 瓶	4℃保存
AK482-C	粉剂×1 瓶	-20℃保存
AK482-D	粉剂×1 瓶	4℃保存；用时加入25mL蒸馏水，溶解后4℃可保存一周
AK482-E	粉剂×1 瓶	4℃保存；用时加入25mL蒸馏水，溶解后4℃可保存一周
AK482-F	25mL×1 瓶	室温保存
AK482-S	1mL×1 瓶	标准磷贮备液 (10μmol/mL)，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:** 乙酰辅酶 A 羧化酶 (Acetyl-CoA carboxylase, ACC) 在生物体内催化乙酰辅酶 A 羧化生成丙二酰辅酶 A，是脂肪酸和许多次生代谢产物合成的关键酶。ACC 的活性在一定程度上决定了脂肪酸的合成速度和含油量的高低。

**原理:** ACC 能够催化乙酰辅酶 A、NaHCO<sub>3</sub> 和 ATP 生成丙二酰辅酶 A、ATP 和无机磷，通过钼酸铵定磷法测定无机磷的增加量来测定 ACC 活性。

**自备用品:**

分光光度计/酶标仪、恒温水浴锅、台式离心机、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板、研钵、冰和蒸馏水。

**样本的前处理:**

- 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<sup>4</sup> 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 ES482），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。
- 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 ES482），进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

**测定步骤:**

- 分光光度计/酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 660nm，蒸馏水调零。
- 酶促反应试剂的配制和预热：在 AK482-B 瓶中加入 2.5mL AK482-A，充分溶解混匀；在 AK482-C 瓶中加入 2mL 蒸馏水，充分溶解混匀；将 AK482-A, AK482-B, AK482-C 在 37℃(哺乳动物)或 25℃(其它物种)预热 10 分钟。
- 定磷试剂的配制：按 H<sub>2</sub>O: AK482-D : AK482-E : AK482-F = 2:1:1:1 的比例配制，配好的定磷试剂应为浅黄色，若无色则试剂失效，若是蓝色则为磷污染，定磷剂现用现配。
- 注意：配试剂最好用新的烧杯、玻棒和玻璃移液器，也可以用一次性塑料器皿，避免磷污染。
- 0.5μmol/mL 标准磷应用液配制：将试剂 AK482-S 20 倍稀释，即取 0.5mL AK482-S 加 9.5ml 蒸馏水，充分混匀。
- 酶促反应：

试剂名称	对照管 (ul)	测定管 (ul)
AK482-A	90	

AK482-B		50
AK482-C		40
样本	10	10
37°C (哺乳动物) 或 25°C (其它物种) 准确反应 30min 后, 90°C 水浴 5min (盖紧, 以防止水分散失), 冷却后, 10000g 25°C 离心 5min, 取上清		

6. 定磷

试剂名称	标准管(ul)	空白管(ul)	对照管(ul)	测定管(ul)
AK482-S (0.5μmol/mL)	20			
蒸馏水		20		
上清液			20	20
定磷试剂	180	180	180	180
混匀, 37°C (哺乳动物) 或 25°C (其它物种) 水浴 30min, 冷却至室温, 在 660nm 处, 蒸馏水调零, 记录各管吸光值 A。标准管、空白管只要做 1-2 次即可, 每个测定管需要设一个对照管。				

**注意:** 若测定管吸光值大于 2, 将样品用提取液稀释适当倍数后再进行测定, 使吸光值小于 2, 可提高检测灵敏度, 计算公式中乘以相应稀释倍数。

**ACC 活性计算:**

1. 按组织蛋白浓度计算:

定义: 每小时每毫克组织蛋白产生 1μmol 无机磷的量为一个 ACC 活力单位。

$$\begin{aligned} \text{ACC (U/mg prot)} &= (C \text{ 标准管} \times V \text{ 总}) \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div (V \text{ 样} \times C_{\text{pr}}) \div T \\ &= 10 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div C_{\text{pr}} \end{aligned}$$

2. 按样本鲜重计算:

单位定义: 每小时每 g 组织产生 1μmol 无机磷的量为一个 ACC 活力单位。

$$\begin{aligned} \text{ACC (U/g 鲜重)} &= (C \text{ 标准管} \times V \text{ 总}) \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \times V \text{ 总} \div (W \times V \text{ 样} \div V \text{ 样总}) \div T \\ &= 10 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \div W \end{aligned}$$

3. 按细菌或细胞密度计算:

单位定义: 每小时每 500 万细菌或细胞产生 1μmol 无机磷的量为一个 ACC 活力单位。

$$\begin{aligned} \text{ACC (U/10}^4 \text{ cell)} &= (C \text{ 标准管} \times V \text{ 总}) \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \times V \text{ 总} \div (500 \times V \text{ 样} \div V \text{ 样总}) \div T \\ &= 0.02 \times (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) \div (A \text{ 标准管} - A \text{ 空白管}) \end{aligned}$$

**注:** C 标准管: 标准管浓度, 0.5μmol/mL; V 总: 酶促反应总体积, 0.1mL; V 样: 加入样本体积, 0.01mL; V 样总: 加入提取液体积, 1mL; T: 反应时间, 0.5 小时; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本鲜重, 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](#))