

脂肪酸合成酶（FAS）活性检测试剂盒说明书

紫外分光光度法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC0550

规格：10T/9S、25T/24S、50T/48S

产品内容：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	10T 规格	25T 规格	50T 规格	保存条件
提取液	液体 15 mL×1 瓶	液体 30 mL×1 瓶	液体 60 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	粉剂×1 支	粉剂×2 支	粉剂×2 瓶	-20℃保存
试剂二	粉剂×1 支	粉剂×2 支	粉剂×2 瓶	-20℃保存
试剂三	液体 15 mL×1 瓶	液体 30 mL×1 瓶	液体 55 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四	粉剂×1 支	粉剂×2 支	粉剂×2 支	-20℃保存

10T 溶液的配制：

1. 试剂一：临用前取一支加入 1.25 mL 试剂三，充分溶解，用不完的试剂-20℃分装保存 2 周，禁止反复冻融。
2. 试剂二：临用前取一支加入 1.25 mL 试剂三，充分溶解，用不完的试剂-20℃分装保存 2 周，禁止反复冻融。
3. 试剂四：临用前取一支加入 500 μL 试剂三，充分溶解，用不完的试剂-20℃分装保存 2 周，禁止反复冻融。

25T 溶液的配制：

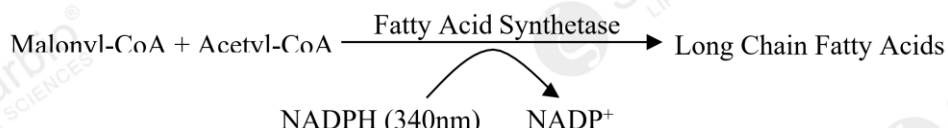
1. 试剂一：临用前取一支加入 2.5 mL 试剂三，充分溶解，用不完的试剂-20℃分装保存 2 周，禁止反复冻融。
2. 试剂二：临用前取一支加入 2.5 mL 试剂三，充分溶解，用不完的试剂-20℃分装保存 2 周，禁止反复冻融。
3. 试剂四：临用前取一支加入 1.25 mL 试剂三，充分溶解，用不完的试剂分装后-20℃保存 2 周，禁止反复冻融。

50T 溶液的配制：

1. 试剂一：临用前取一支加入 2.5 mL 试剂三，充分溶解，用不完的试剂-20℃分装保存 2 周，禁止反复冻融。
2. 试剂二：临用前取一支加入 2.5 mL 试剂三，充分溶解，用不完的试剂-20℃分装保存 2 周，禁止反复冻融。
3. 试剂四：临用前取一支加入 1.25 mL 试剂三，充分溶解，用不完的试剂分装后-20℃保存 2 周，禁止反复冻融。

产品说明：

脂肪酸合成酶（Fatty Acid Synthetase, FAS）是一种关于脂肪酸再生能力并起重要作用的限速酶，它通过催化丙二酰辅酶 A、乙酰辅酶 A 和 NADPH 生成长链脂肪酸和 NADP⁺，NADPH 在 340nm 条件下有特征吸收峰。通过检测 340nm 条件下吸光值的下降速率，可以计算出 FAS 活性。



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。

需自备的仪器和用品：





紫外分光光度计、水浴锅/恒温培养箱、低温离心机、可调式移液器、1 mL 石英比色皿、研钵/匀浆器/超声波细胞破碎仪、冰和蒸馏水。

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. 细菌、细胞样本的制备: 按照细胞数量 (10^4 个): 提取液体积 (mL) 为 500~1000:1 的比例 (建议 500 万细胞加入 1 mL 提取液), 冰浴超声波破碎细胞 (功率 300W, 超声 3 秒, 间隔 9 秒, 总时间 5 min); 于 4°C, 12000 g 离心 20 min, 取上清液, 置于冰上待测。
2. 组织样本的制备: 按照质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 1:5~10 的比例 (建议称取约 0.1 g 组织, 加入 1 mL 提取液) 加入提取液, 冰浴匀浆后于 4°C, 12000 g 离心 20 min, 取上清液, 置于冰上待测。
3. 血清 (浆) 等液体样本: 直接测定。

二、测定步骤

- 1、紫外分光光度计预热 30 min 以上, 调节波长至 340 nm, 蒸馏水调零。
- 2、试剂三临用前置于 37°C 中预热 15 min。
- 3、加样表 (在 1 mL 石英比色皿中加入下列试剂)

试剂名称	测定管	空白管
上清液	100	-
蒸馏水	-	100
试剂一	80	80
试剂二	80	80
试剂三	700	700
试剂四	40	40

迅速吹打混匀, 记录第 15s 的吸光值 A1 测定 (A1 空白), 和 1min15s 时的吸光值 A2 测定 (A2 空白), 计算 $\Delta A = (A1 \text{ 测定} - A2 \text{ 测定}) - (A1 \text{ 空白} - A2 \text{ 空白})$ 。

空白管只需测定 1-2 次, 如果样本数量过多也可以将试剂一到试剂四按上述比例混匀配制成工作液进行测定。

三、FAS 活性计算

1、计算公式

(1) 按照蛋白浓度计算

单位定义: 在 37°C 条件下, 每毫克蛋白每分钟氧化 1 nmol NADPH 为 1 个酶活单位。

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

(2) 按照样本质量计算

单位定义: 在 37°C 条件下, 每克组织每分钟氧化 1 nmol NADPH 为 1 个酶活单位。

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

(3) 按细胞数量计算

单位定义: 在 37°C 条件下, 每 10^4 个细胞每分钟氧化 1 nmol NADPH 为 1 个酶活单位。

$$\text{FAS 活性 (U/10}^4 \text{ cell)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9] \div (N \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 1607.7 \times \Delta A \div N$$

(4) 按液体体积计算

单位定义: 在 37°C 条件下, 每毫升样本每分钟氧化 1 nmol NADPH 为 1 个酶活单位。



FAS 活性 (U/mL) = $[\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 1607.5 \times \Delta A$

ϵ : NADPH 摩尔消光系数, 6.22×10^3 L/mol/cm; d : 1mL 石英比色皿光径, 1 cm; $V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, 1000 $\mu\text{L} = 1 \times 10^{-3}$ L; C_{pr} : 上清液蛋白质浓度, mg/mL; W : 样本质量, g; $V_{\text{样}}$: 加入反应体系中上清液体积, 100 $\mu\text{L} = 0.1$ mL; $V_{\text{样总}}$: 提取液体积, 1 mL; T : 反应时间, 1 min; N : 细胞数量, 万个 (以万计); 10^9 : 换算系数, $1 \text{ mol} = 10^9 \text{ nmol}$ 。

注意事项:

- 1、提取液中含有 BSA (约 2mg/mL), 测定上清液蛋白浓度时需要减去提取液中蛋白浓度。
- 2、如果测定吸光值 > 1.2 或 $\Delta A > 0.5$, 建议用蒸馏水稀释样本后再进行测定, 计算公式中乘稀释倍数。如果测定吸光值较小, 建议加大样本量后再进行测定。

实验实例:

- 1、取 0.1 g 小鼠肺加入 1 mL 提取液进行冰浴匀浆。12000 g 4°C 离心 20 min, 取上清置冰上, 之后用 1 mL 石英比色皿按照测定步骤操作, 测得计算 $\Delta A = (A1_{\text{测定}} - A2_{\text{测定}}) - (A1_{\text{空白}} - A2_{\text{空白}}) = (1.221 - 1.195) - (0.533 - 0.532) = 0.025$, 按样本质量计算酶活得:

FAS 活性(U/g 质量) = $1607.7 \times \Delta A \div W = 418$ U/g 质量。

相关发表文献:

- [1] Gao R, Li Y, Xu Z, Zhang F, Xu J, Hu Y, Yin J, Yang K, Sun L, Wang Q, He X, Huang K. Mitochondrial pyruvate carrier 1 regulates fatty acid synthase lactylation and mediates treatment of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2023 Dec 1;78(6):1800-1815. doi: 10.1097/HEP.0000000000000279. Epub 2023 Jan 19. PMID: 36651176.
- [2] Qu H, Shan K, Tang C, Cui G, Fu G, Qi Y, Cui J, Li J, Wang R, Feng N, Chen YQ. A novel small-molecule fatty acid synthase inhibitor with antitumor activity by cell cycle arrest and cell division inhibition. *Eur J Med Chem*. 2021 Jul 5;219:113407. doi: 10.1016/j.ejmech.2021.113407. Epub 2021 Apr 20. PMID: 33901805.
- [3] Yang L, Zhao M, Liu M, Zhang W, Zhi S, Qu L, Xiong J, Wang L, Qin C, Nie G. Effects of Genistein on Lipid Metabolism, Antioxidant Activity, and Immunity of Common Carp (*Cyprinus carpio* L.) Fed with High-Carbohydrate and High-Fat Diets. *Aquac Nutr*. 2023 Mar 31;2023:9555855. doi: 10.1155/2023/9555855. PMID: 37034827; PMCID: PMC10081910.

参考文献:

- [1] Robinson J D, Bradley R M, Brady R O. Biosynthesis of Fatty Acids[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1960, 238(2).
- [2] Tel B. Purification and crystallization of rat liver fatty acid synthetase[J]. *Archives of Biochemistry & Biophysics*, 1981, 209(2):613-619.

相关系列产品:

- BC2340/BC2345 脂肪酶 (LPS) 活性检测试剂盒
- BC1080/BC1085 乙醇脱氢酶 (ADH) 活性检测试剂盒
- BC0590/BC0595 游离脂肪酸 (FFA) 含量检测试剂盒

