

乙酰辅酶 A 羧化酶 (ACC) 活性检测试剂盒 (酶法) 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：BC6020

规格：50T/48S

产品组成：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	规格	保存条件
提取液一	液体 60 mL×1 瓶	2-8℃保存
提取液二	液体 0.6 mL×1 支	-20℃保存
试剂一 A	液体 15 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一 B	粉剂×1 支	-20℃保存
试剂二	粉剂×1 瓶	-20℃保存
试剂三	液体 60 μL×1 支	2-8℃保存
试剂四	液体 25 μL×1 支	2-8℃保存
试剂五	粉剂×1 瓶	-20℃保存
试剂六	粉剂×1 瓶	-20℃保存

溶液的配制：

1. 提取液二：为易挥发试剂，用完后尽快密封，-20℃保存。
2. 提取液的配制：按提取液一：提取液二=990μL：10μL（共 1mL，约 1T）的比例配制，根据样本量现配现用，禁止将提取液二一次性全部加入提取液一中。
3. 试剂一：临用前将试剂一 B 全部倒入试剂一 A，充分溶解待用；可分装后-20℃保存 4 周，避免反复冻融。
4. 试剂二：试剂放于棕色瓶内玻璃瓶中，临用前加入 12mL 蒸馏水，充分溶解待用；可分装后-20℃保存 4 周，避免反复冻融。
5. 试剂三稀释液：临用前离心，根据样本量按照试剂三：蒸馏水=1μL：50μL（共 51μL，约 1T）的比例充分混匀，现配现用。
6. 试剂四稀释液：临用前离心，根据样本量按照试剂四：蒸馏水=4μL：500μL（共 504μL，约 10T）的比例充分混匀，现配现用。
7. 试剂五：试剂放于棕色瓶内玻璃瓶中，临用前加入 12mL 蒸馏水；可分装后-20℃保存 4 周，避免反复冻融。
8. 试剂六：试剂放于棕色瓶内玻璃瓶中，临用前加入 12mL 蒸馏水；可分装后-20℃保存 4 周，避免反复冻融。
9. 工作液的配制：临用前根据样本量按试剂三稀释液：试剂四稀释液：试剂五：试剂六=50μL:50μL:200μL:200μL（共 500μL，约 1T）的比例配制，现配现用。

产品说明：

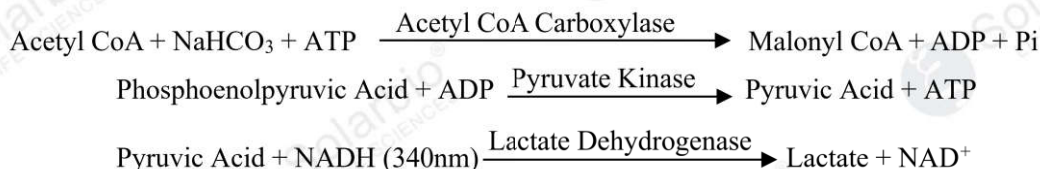
乙酰辅酶A羧化酶（Acetyl-CoA carboxylase, ACC）在生物体内催化乙酰辅酶A羧化生成丙二酰辅酶A，是脂肪酸和许多次生代谢产物合成的关键酶。ACC的活性在一定程度上决定了脂肪酸的合成速度和含油量的高低。

ACC能够催化乙酰辅酶A、NaHCO₃和ATP生成丙二酰辅酶A、ADP和无机磷，丙酮酸激酶和乳酸脱氢酶进一





步依次催化NADH生成NAD⁺，在340nm下测定NADH下降速率，即可反映ACC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、分析天平、低温离心机、1mL石英比色皿、可调式移液枪、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、漩涡振荡仪、水浴锅/恒温培养箱、蒸馏水和冰。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参文献）

1、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 提取液）进行冰浴匀浆，然后 8000g，4℃，离心 10min，取上清置于冰上待测。

2、细菌或细胞：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（10⁶ 个）：提取液体积（mL）为 5~10：1 的比例（建议 5 百万细胞加入 1mL 提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率 300W，超声 3 秒，间隔 7 秒，总时间 3min）；然后 8000g，4℃，离心 10min，取上清置于冰上待测。

3、血清（浆）：直接测定。

二、测定步骤

1、分光光度计预热30min以上，调节波长至340nm，蒸馏水调零。

2、临用前根据样本量将试剂一和工作液预热5min。

3、操作表：（在1mL石英比色皿/1.5mL离心管中依次加入下列试剂）

试剂名称（μL）	测定管	空白管
试剂一	250	250
样本	50	-
蒸馏水	-	50
工作液	500	500
试剂二	200	200

将上述试剂按顺序加入1mL石英比色皿中，立即充分混匀于340nm处测定10s时的吸光值A1，迅速置于37℃准确反应10min，拿出迅速擦干测定10min10s时的吸光值A2。计算ΔA测定=A1测定-A2测定，ΔA空白=A1空白-A2空白，ΔA=ΔA测定-ΔA空白，空白管只需做1-2次。

三、ACC 活性计算

1. 按样本蛋白浓度计算：

酶活定义：每毫克组织蛋白在反应体系中每分钟催化 1nmol NADH 转化为 1nmol NAD⁺为一个酶活单位。

$$\text{ACC 活性 (U/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T = 321.5 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

2. 按样本质量计算：

酶活定义：每 g 组织在反应体系中每分钟催化 1nmol NADH 转化为 1nmol NAD⁺为一个酶活单位。

$$\text{ACC 酶活 (U/g 质量)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 321.5 \times \Delta A \div W$$

3. 按照细菌或细胞数量计算：



酶活定义：每 10^6 个细菌或细胞在反应体系中每分钟催化 1nmol NADH 转化为 1nmol NAD^+ 为一个酶活单位。

$$\text{ACC 酶活 (U/10}^6\text{ cell)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (N \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 321.5 \times \Delta A \div N$$

4. 按血清（浆）体积计算：

酶活定义：每 mL 液体在反应体系中每分钟催化 1nmol NADH 转化为 1nmol NAD^+ 为一个酶活单位。

$$\text{ACC 酶活 (U/mL)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 321.5 \times \Delta A$$

V反总：反应体系总体积， 1×10^{-3} L； ϵ ：NADH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm；d：1mL 石英比色皿光径，1cm；V样：加入样本体积，0.05mL；V样总：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，10min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL，蛋白浓度自行测定；W：样本质量，g；N：细菌或细胞数量，以 10^6 计； 10^9 ：单位换算系数， $1\text{mol} = 10^9\text{nmol}$ 。

注意事项：

- 1、1mL 石英比色皿中反应液的温度必须保持 37°C ，取小烧杯一只装入一定量的 37°C 蒸馏水，将此烧杯放入 37°C 水浴锅中，在反应过程中把 1mL 石英比色皿连同反应液放在此烧杯中。
- 2、最好两个人同时做此实验，一个人比色，一个人计时，以保证实验结果的准确性。
- 3、当 A1 测定 < A1 空白时，建议将样本用蒸馏水稀释后再进行测定；当样本 ΔA 过小时，建议增大样本量或延长反应时间，注意同步修改计算公式。
- 4、由于提取液一中含有蛋白（约 1mg/mL），若需要测定样本的蛋白浓度，需要减去提取液本身的蛋白浓度。

实验实例：

1. 取 0.1044g 小鼠脑组织，加入 1mL 提取液，进行匀浆、离心、取上清，之后按照测定步骤操作，用 1mL 石英比色皿测得计算 $\Delta A = (A1_{\text{测定}} - A2_{\text{测定}}) - (A1_{\text{空白}} - A2_{\text{空白}}) = (1.520 - 0.229) - (1.489 - 1.456) = 1.258$ ，按样本质量计算酶活得：
 $\text{ACC 酶活 (U/g 质量)} = 321.5 \times \Delta A \div W = 3874.01 \text{ U/g 质量}$ 。
2. 取 0.1041g 向日葵叶片组织，加入 1mL 提取液，进行匀浆、离心、取上清，之后按照测定步骤操作，用 1mL 石英比色皿测得计算 $\Delta A = (A1_{\text{测定}} - A2_{\text{测定}}) - (A1_{\text{空白}} - A2_{\text{空白}}) = (1.477 - 1.374) - (1.489 - 1.456) = 0.070$ ，按样本质量计算酶活得：
 $\text{ACC 酶活 (U/g 质量)} = 321.5 \times \Delta A \div W = 216.19 \text{ U/g 质量}$ 。
3. 取 3×10^6 个 Raw 细胞，加入 1mL 提取液，进行匀浆、离心、取上清，之后按照测定步骤操作，用 1mL 石英比色皿测得计算 $\Delta A = (A1_{\text{测定}} - A2_{\text{测定}}) - (A1_{\text{空白}} - A2_{\text{空白}}) = (1.464 - 1.255) - (1.489 - 1.456) = 0.176$ ，按细胞数量计算酶活得：
 $\text{ACC 酶活 (U/10}^6\text{ cell)} = 321.5 \times \Delta A \div N = 18.86 \text{ U/10}^6\text{ cell}$ 。

相关系列产品：

- BC1080/BC1085 乙醇脱氢酶（ADH）活性检测试剂盒
BC2350/BC2355 酰基转移酶（AAT）活性检测试剂盒
BC0750/BC0755 乙醛脱氢酶（ALDH）活性检测试剂盒

