

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号: E-BC-K779-M

产品规格: 96T(40 samples)

检测仪器: 酶标仪(550-560 nm)

Elabscience®酰基辅酶 A 合成酶 (ACS)

比色法测试盒

Acyl-CoA Synthetase (ACS) Activity

Colorimetric Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话: 400-999-2100

邮箱: biochemical@elabscience.cn

网址: www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测血清(浆)、动(植)物组织和细胞样本中的酰基辅酶 A 合成酶(ACS)的活力。

检测原理

酰基辅酶 A 合成酶(ACS)是一种重要的酶类物质,广泛存在于生物体内,参与脂肪酸的代谢过程,是脂质合成、脂肪酸分解代谢和膜重塑所必需的酶,还可作为转录激活剂、变构抑制剂或炎症介质的前体发挥作用。在医学领域,ACS 的突变或表达异常可能与多种疾病相关,如糖尿病、肥胖症等。

本试剂盒的检测原理:样本中的 ACS 催化底物,生成的产物与显色剂反应产生紫色物质,其在 555 nm 处有最大的吸收峰。因此可以测定 555 nm 处的吸光度来计算产物的生成量,从而计算 ACS 酶活。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 (Size)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	50 mL×1 瓶	-20℃ 避光 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	辅因子 (Co-factor)	粉剂×2 支	-20℃ 避光 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	促进剂 (Accelerant)	粉剂×2 瓶	-20℃ 避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	底物 (Substrate)	0.3 mL×1 支	-20℃ 避光 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	酶试剂 (Enzyme Reagent)	3.6 mL×1 瓶	-20℃ 避光 保存 6 个月
试剂六 (Reagent 6)	显色剂 (Chromogenic Agent)	3.6 mL×1 瓶	-20℃ 避光 保存 6 个月
试剂七 (Reagent 7)	2 mmol/L 标准品溶液 (2 mmol/L Standard Solution)	1.6 mL×1 支	-20℃ 避光 保存 6 个月
	酶标板	96 孔×1 块	无要求
	96 孔覆膜	2 张	
	样本位置标记表	1 张	

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：酶标仪(550-560 nm，最佳检测波长 555 nm)、恒温箱

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温(25℃)。

② 试剂二工作液的配制：

取一支试剂二加入0.8 mL的试剂一溶解完全后使用，分装-20℃避光可保存7天。

③ 试剂三工作液的配制：

取一瓶试剂三加入2.7 mL的试剂一溶解完全后使用，分装-20℃避光可保存7天。

④ 反应工作液的配制：

按照试剂二工作液：试剂三工作液 = 1:5的体积比稀释，按需配制，避光置于冰上备用，配制好的反应工作液在-20℃避光可保存2天。

⑤ 试剂四工作液的配制：

试剂四放置于37℃恒温箱孵育10 min，按照试剂四：双蒸水 = 1:19的体积比稀释，按需配制，避光置于冰上备用，稀释后的试剂四工作液在-20℃避光可保存2天。

⑥ 显色工作液的配制：

按照试剂五：试剂六 = 1:1的体积比混匀，按需配制，置于冰上避光待用，配制好的显色工作液-20℃条件下避光可保存2天。

⑦ 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度(mmol/L)	0	0.2	0.4	0.8	1	1.2	1.6	2
2 mmol/L 标准品(μ L)	0	20	40	80	100	120	160	200
试剂一(μ L)	200	180	160	120	100	80	40	0

样本准备

① 样本处理

血清（浆）：直接检测。

组织样本：按照组织样本质量(g)：试剂一体积(mL)=1:9的比例匀浆(如0.1 g组织样本，加入0.9 mL试剂一)。4℃，10000 × g，离心10 min，取上清置于冰盒上待测，制备好的组织匀浆液上清在4 h内使用为宜。

细胞样本：取 1×10^6 个细胞加入200 μ L的试剂一匀浆，4℃，10000 × g，离心10 min，取上清置于冰盒上待测，制备好的细胞匀浆液上清在4 h内使用为宜。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.004-0.107 U/L，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
10%小鼠肝组织	1-4	10%小鼠肾组织	不稀释
10%小鼠脑组织	不稀释	10%小鼠心脏组织	不稀释
10%小鼠肺组织	不稀释	10%小鼠腿肌肉组织	不稀释
10%小鼠脾脏组织	不稀释	10%玉米组织	不稀释
1×10^6 Molt-4 细胞	不稀释	小鼠血清	不稀释
人血浆	不稀释		

注：稀释液为试剂一

实验关键点

试剂四使用前需观察是否澄清，若 37°C 放置 10 min 后未完全澄清可适当延长时间。

操作步骤

- ① 标准孔：取 10 μL 不同浓度标准品加入相应的酶标孔中。
测定孔：取 10 μL 待测样本加入相应的酶标孔中。
对照孔：取 10 μL 待测样本加入相应的酶标孔中。
- ② 向步骤①中的标准孔中加入 100 μL 的试剂一。向测定孔和对照孔中加入 50 μL 的反应工作液。
- ③ 向步骤②中的对照孔中加入 50 μL 的双蒸水。
向步骤②中的测定孔中加入 50 μL 的试剂四工作液。
- ④ 向步骤③中的各孔中加入 60 μL 的显色工作液。
- ⑤ 振板 5 s，37°C 避光孵育 10 min。酶标仪 555 nm 波长下检测各孔 OD 值。

操作表

	标准孔	测定孔	对照孔
不同浓度标准品(μL)	10	--	--
待测样本(μL)	--	10	10
反应工作液(μL)	--	50	50
试剂一(μL)	100	--	--
双蒸水(μL)	--	--	50
试剂四工作液(μL)	--	50	--
显色工作液(μL)	60	60	60
振板 5 s，37°C 避光孵育 10 min。酶标仪于 555 nm 波长下检测各孔 OD 值。			

结果计算

标准曲线: $y = ax + b$

① 血清（浆）样本中酰基辅酶 A 合成酶(ACS)活力计算公式:

定义: 37°C 条件下, 每升血清(浆)每分钟生成 1 mmol H₂O₂ 的能力为 1 个酶活力单位。

$$\text{ACS 活力(U/L)} = (\Delta A_{555} - b) \div a \div T \times f$$

② 组织样本中酰基辅酶 A 合成酶(ACS)活力计算公式:

定义: 37°C 条件下, 每千克组织每分钟生成 1 mmol H₂O₂ 的能力为 1 个酶活力单位。

$$\text{ACS 活力(U/kg wet weight)} = (\Delta A_{555} - b) \div a \div T \div m \times v \times f$$

③ 细胞样本中酰基辅酶 A 合成酶(ACS)活力计算公式:

定义: 37°C 条件下, 每 10⁶ 个细胞每分钟生成 1 μmol H₂O₂ 的能力为 1 个酶活力单位。

$$\text{ACS 活力(U/10}^6) = (\Delta A_{555} - b) \div a \div T \div n \times v \times f$$

注解:

y: 标准品 OD 值-空白 OD 值 (标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x: 标准品的浓度

a: 标准曲线的斜率

b: 标准曲线的截距

ΔA_{555} : $\Delta A_{555} = \text{OD}_{\text{测定}} - \text{OD}_{\text{对照}}$

T: 反应时间, 10 min

m: 样本质量, kg

n: 细胞个数/10⁶

v: 加入的样本匀浆液的体积, L

f: 样本检测前稀释的倍数

附录 1 关键数据

1. 技术参数

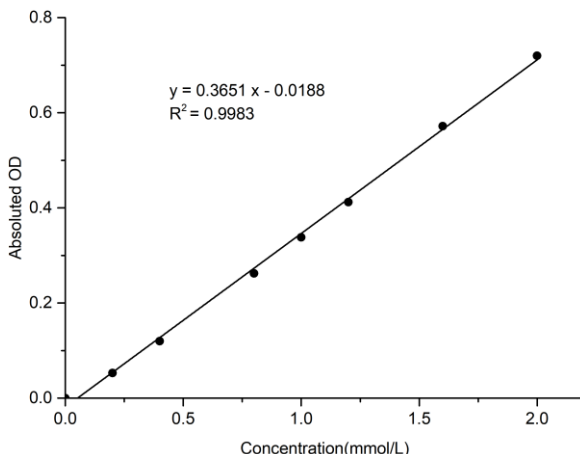
检测范围	0.004-0.107 U/L	批间差	3.8-8.9%
灵敏度	0.004 U/L	批内差	2.0-3.6%
稀释回收率	95-100%		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

① 不同浓度的标准品加样量为10 μ L，按照操作表进行操作记录OD值，结果如下：

标准品浓度 (mmol/L)	0	0.2	0.4	0.8	1	1.2	1.6	2
OD 值	0.058	0.108	0.176	0.318	0.391	0.470	0.627	0.778
	0.058	0.114	0.180	0.322	0.401	0.472	0.635	0.778
平均 OD 值	0.058	0.111	0.178	0.320	0.396	0.471	0.631	0.778
绝对 OD 值	0	0.053	0.120	0.262	0.338	0.412	0.572	0.720

② 绘制标准曲线，如下图所示：



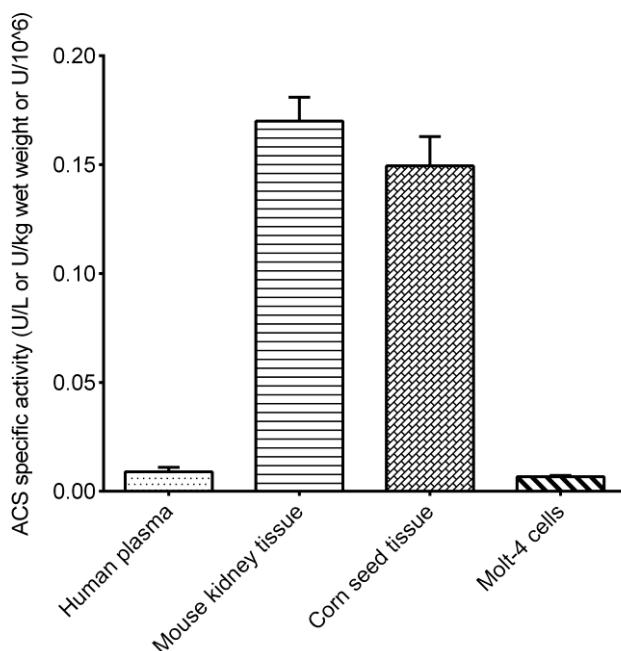
附录2 实例分析

例如小鼠肾组织(数据仅供参考):

取10 μL 10%小鼠肾组织匀浆的上清液加入到酶标板孔中, 按操作表操作, 结果如下: 标准曲线为 $y = 0.3651x - 0.0188$; 测定孔平均OD值为0.136, 对照孔平均OD值为0.086; $\Delta A_{555} = \text{OD}_{\text{测定}} - \text{OD}_{\text{对照}} = 0.136 - 0.086 = 0.050$, 计算结果为:

$$\begin{aligned}\text{ACS活力(U/kg wet weight)} &= (0.050 + 0.0188) \div 0.3651 \div 10 \div 0.0001 \times 0.0009 \\ &= 0.170 \text{ U/kg wet weight}\end{aligned}$$

按说明书操作, 测定人血浆(不稀释, 加样量10 μL)、小鼠肾组织(10%组织样本, 不稀释, 加样量10 μL)、玉米组织(10%组织样本, 不稀释, 加样量10 μL)、Molt-4细胞(1×10^6 个, 不稀释, 加样量10 μL) ACS活力(如下图):



声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。

