

CheKine™ 乙酰辅酶 A (Acetyl-CoA) 含量检测试剂盒 (微量法)

货号: KTB1260

规格: 48 T/48 S

96 T/96 S

批号: 见产品标签

≠	检测范围: 1.5-3200 nmol/mL		灵敏度: 1.5 nmol/mL
	适用样本: 动植物组织、细胞		
	保质期: -20℃, 避光保存 12 个月		

01 背景与原理

乙酰辅酶 A (Acetyl-CoA) 广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中。是生物体能源物质代谢过程中产生的一种重要的中间代谢产物。在体内能源物质代谢中是一个枢纽性的物质。糖、脂肪、蛋白质三大营养物质通过乙酰辅酶 A 汇聚成一条共同的代谢通路--三羧酸循环和氧化磷酸化, 经过这条通路彻底氧化生成二氧化碳和水, 释放能量用于 ATP 合成。此外, 乙酰辅酶 A 是合成脂肪酸, 酮体, 胆固醇及其衍生物等生理活性物质的前体物质。

本试剂盒检测原理是苹果酸脱氢酶可催化苹果酸和 NAD 生成草酰乙酸和 NADH。柠檬酸合酶可催化乙酰辅酶 A 和草酰乙酸生成柠檬酸和辅酶 A。利用苹果酸脱氢酶和柠檬酸合酶的偶联反应, 乙酰辅酶 A 含量和 NADH 的生成速率成正比, NADH 在 340 nm 处有特征吸收峰, 通过检测 340 nm 吸光值的计算既可得到乙酰辅酶 A 含量。

本试剂盒通过精准调控酶促反应动力学, 有效延长反应的持续时间, 消除了样本加样时间差带来的结果偏差, 并提供了充裕的加样缓冲时间; 同时采用预混工作液设计进一步简化操作。本试剂盒可适配高通量批量样本检测, 全方位解决了乙酰辅酶 A (Acetyl-CoA) 含量检测的检测难点。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Extraction Buffer	60 mL	60 mL×2	4℃
Reagent I	17 mL	34 mL	4℃
Standard	Powder×2 vials	Powder×2 vials	-20℃, 避光保存

*请在实验前检查各组分的量。

*各组分在规格基础上额外提供 10% 的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 340 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	UV 板
试剂	去离子水	试剂配制用
其他	匀浆器（组织样本）、低温离心机、水浴锅、 可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有 助于提高实验效率

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。
- 对于组织样本及细胞样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3002 的蛋白质定量试剂盒（Bradford 法）。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 建议实验者自行建立标准曲线以提高结果准确度。如未自行建立标准曲线，可参考结果展示部分的典型标准曲线公式进行结果计算。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

05-1-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Extraction Buffer	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存；Extraction Buffer 有刺激性气味，建议在通风橱进行实验。
Reagent I	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
8000 nmol/mL Standard	临用前配制；取一支 Standard，48 T 加入 0.5 mL 去离子水，96 T 加入 1 mL 去离子水，充分溶解备用	8000 nmol/mL；实验过程中避光冰上放置；未用完的试剂分装后-20℃避光可保存 2 周，禁止反复冻融。48 T 与 96 T 试剂盒内均提供两管。

05-1-2 标准品配制

按下表所示，用去离子水稀释 8000 nmol/mL Standard，以去离子水作为空白。每次实验都要做一次标准品检测，制作标曲；稀释后的标准品溶液不稳定，必须在 4 小时内使用。

序号	标准品 (μL)	去离子水 (μL)	浓度 (nmol/mL)
1	100 μL 8000 nmol/mL	150	3200
2	100 μL of 3200 nmol/mL	100	1600
3	100 μL of 1600 nmol/mL	100	800
4	100 μL of 800 nmol/mL	100	400
5	100 μL of 400 nmol/mL	100	200
6	100 μL of 200 nmol/mL	100	100
7	100 μL of 100 nmol/mL	100	50
空白	0	200	0

05-2 样本制备

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。

- **动植物组织：**称取 0.1 g 组织加入 1 mL Extraction Buffer 将样本进行冰浴匀浆，如果一次性处理的样本数较多，可以使用低温机械匀浆提高效率，推荐参数设置为 40Hz，匀浆 20s，间隔 10s，重复 3~10 次（3mm 钢珠 2-3 颗，可根据组织类型调整重复次数）。匀浆液在 4℃，13000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。
- **细胞：**收集 5×10^6 个细胞到离心管内，用冷 PBS 清洗细菌或细胞，800g 离心 2min，弃上清液。加入 1 mL Extraction Buffer 进行冰浴超声破碎。超声波破碎细胞（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次），4℃，13000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

05-3 实验步骤

1. **酶标仪准备：**预热 30 min 以上，调节波长到 340 nm。
2. **检测体系配制：**在 96 孔 UV 板中按照如下方式操作，在 5min 内完成全部如下操作不会影响检测结果。检测量大时，建议使用多通道移液器操作以提高加样速度。

试剂	空白孔 (μL)	标准孔 (μL)	测定孔 (μL)
去离子水	25	0	0
Standard	0	25	0
样本	0	0	25
Reagent I	230	230	230

3. **吸光度检测：**充分混匀，空白孔和标准孔读取 340 nm 处 5 min 时的吸光值 $A_{\text{空白}}$ 和 $A_{\text{标准}}$ ，测定孔读取 340 nm 处 5 min 的吸光值 A_1 和 15 min 时的吸光值 A_2 。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网[\[https://www.abbkine.cn\]](https://www.abbkine.cn) > 进入“技术中心”> 查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算 $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ ， $\Delta A_{\text{测定}} = A_2 - A_1$ 。

2. 标准曲线绘制

以标准品浓度为 y 轴， $\Delta A_{\text{标准}}$ 为 x 轴，绘制标准曲线。将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 代入方程得到 y 值 (nmol/mL)。

3. 样本乙酰辅酶 A 含量计算

● 按样本质量计算

乙酰辅酶 A (nmol/g) = $(y \times V_{\text{样}}) \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提取}}) \times n = y \div W \times n$

● 按细胞数量计算：

乙酰辅酶 A (nmol/ 10^4) = $(y \times V_{\text{样}}) \div (N \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提取}}) \times n = y \div N \times n$

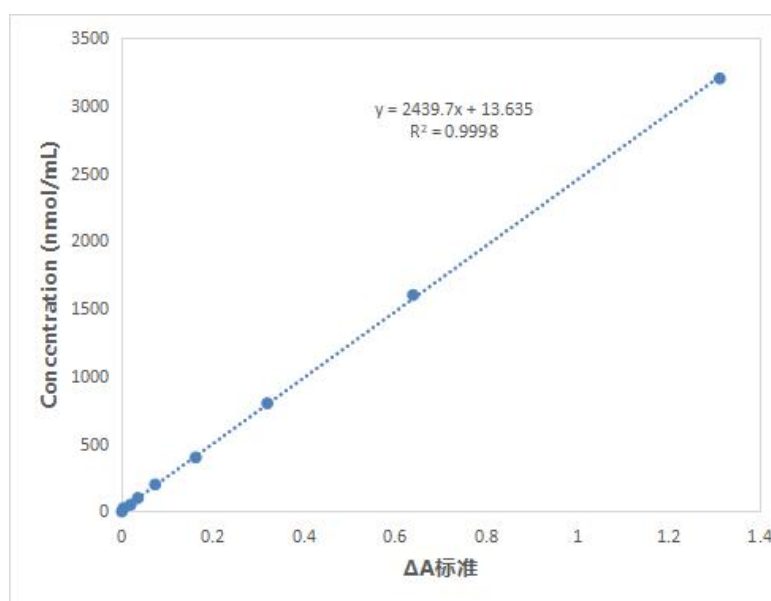
● 按蛋白浓度数量计算

乙酰辅酶 A (nmol/mg prot) = $(y \times V_{\text{样}}) \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \times n = y \div C_{\text{pr}} \times n$

$V_{\text{样}}$ ：加入反应体系中样本体积，0.025 mL； $V_{\text{提取}}$ ：加入 Extraction Buffer 的体积，1 mL； C_{pr} ：样本蛋白质浓度，mg/mL； W ：样本质量，g； N ：细胞总数，以 10^4 为单位（例如细胞数量为 5×10^6 ， $N=500$ ）； n ：样本稀释倍数。

07 结果展示

典型标准曲线： $y=2439.7x+13.635$ ， $R^2=0.9998$



示例-1: 取 0.125 g 小鼠脑, 按照测定步骤操作, 用 96 孔 UV 板进行检测。测得 $\Delta A_{\text{测定}} = A_2 - A_1 = 0.422 - 0.381 = 0.041$, 代入标准曲线, 计算 $y = 113.663$ 。按样本质量计算得: 乙酰辅酶 A (nmol/g) = $y \div W \times n = 909.30$ nmol/g。

08 FAQ

● 检测得到的样本 $\Delta A_{\text{测定}}$ 过高或者过低怎么办？

如果样本 $\Delta A_{\text{测定}} > 3200$ nmol/mL 的 $\Delta A_{\text{标准}}$, 样本可用 Extraction Buffer 进一步稀释, 计算结果乘以稀释倍数, 或减少提取用样本量。如果样本 $\Delta A_{\text{测定}} < 0.001$, 可增加样本量。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB1023	CheKine™ 柠檬酸合酶（CS）活性检测试剂盒（微量法）
KTB1270	CheKine™ 丙酮酸脱氢酶（PDH）活性检测试剂盒（微量法）
KTB1230	CheKine™ 琥珀酸脱氢酶（SDH）活性检测试剂盒（微量法）
KTB1240	CheKine™ α-酮戊二酸脱氢酶（α-KGDH）活性检测试剂盒（微量法）
KTB1250	CheKine™ 线粒体异柠檬酸脱氢酶（ICDHm）活性检测试剂盒（微量法）

CheKine™ 乙酰辅酶A (Acetyl-CoA) 含量检测流程示意图

(AbbKine 货号 : KTB1260)

