

## CheKine™ 脂肪酸合成酶 (FAS) 活性检测试剂盒 (微量法)

货号: KTB2240

规格: 48 T/48 S

96 T/96 S

批号: 见产品标签

|                                                                                   |                          |
|-----------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|
|  | 适用样本: 动植物组织、细胞、细菌、血清 (浆) |
|  | 保质期: -20℃, 保存 6 个月       |

### 01 背景与原理

脂肪酸合成酶 (FAS) 是脂肪酸合成的关键酶, 催化乙酰辅酶 A 和丙二酰辅酶 A 生成长链脂肪酸。FAS 普遍表达于各种组织细胞中, 在哺乳动物肝、肾、脑、肺和乳腺以及脂肪组织中表达丰富。

本试剂盒检测原理是 FAS 催化乙酰 CoA、丙二酰 CoA 和 NADPH 生成长链脂肪酸和 NADP<sup>+</sup>; NADPH 在 340 nm 有特征吸收峰, 而 NADP<sup>+</sup>没有; 通过测定 340 nm 光吸收下降速率, 计算 FAS 活性。

### 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       | -20℃       |
| Assay Buffer      | 12.5 mL       | 25 mL         | 4℃         |
| NADPH             | Powder×1 vial | Powder×1 vial | -20℃, 避光保存 |
| Acetyl CoA        | Powder×1 vial | Powder×1 vial | -20℃, 避光保存 |
| Malonyl CoA       | Powder×1 vial | Powder×1 vial | -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     | PBS                                   | 样本清洗用                         |
| 其他     | 匀浆器（组织样本）、恒温箱、冰盒、低温离心机、<br>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<br>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：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 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）。
- 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

| 试剂名称                | 试剂准备                                                                     | 注意事项                                       |
|---------------------|--------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|
| Extraction Buffer   | 即用型；用前一天取出置于 4℃ 充分解冻后混匀，平衡到室温                                            | -20℃ 保存                                    |
| Assay Buffer        | 即用型；使用前平衡到室温                                                             | 4℃ 保存；Assay Buffer 有一定的刺激性，建议在使用过程中做好个人防护。 |
| Working NADPH       | 临用前配制；48 T 加入 0.984 mL Assay Buffer，96 T 加入 1.968 mL Assay Buffer，充分溶解待用 | 实验过程中避光冰上放置；用不完的试剂-20℃ 分装避光保存 2 周，禁止反复冻融   |
| Working Acetyl CoA  | 临用前配制；48 T 加入 0.264 mL Assay Buffer，96 T 加入 0.528 mL Assay Buffer，充分溶解待用 | 实验过程中避光冰上放置；用不完的试剂-20℃ 分装避光保存 2 周，禁止反复冻融   |
| Working Malonyl CoA | 临用前配制；48 T 加入 0.504 mL Assay Buffer，96 T 加入 1.008 mL Assay Buffer，充分溶解待用 | 实验过程中避光冰上放置；用不完的试剂-20℃ 分装避光保存 2 周，禁止反复冻融   |

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。对于脂肪含量较高的动物组织，离心后移除上层脂肪，再取上清液。

- 动物组织：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴匀浆，12000 g，4℃ 离心 40 min，取上

清置冰上待测。

- **植物组织**：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Extraction Buffer 捣碎，超声波破碎 5 min（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），12000 g，4℃ 离心 40 min，取上清置冰上待测。
- **细胞或细菌**：收集  $5 \times 10^6$  个细胞或细菌，用预冷的 PBS 清洗细胞或细菌，800 g 离心 2 min，弃上清。加入 1 mL Extraction Buffer 进行冰浴超声破碎。超声波破碎 5 min（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），4℃，12000 g 离心 40 min，取上清置于冰上待测。
- **血清（浆）**：直接测定。

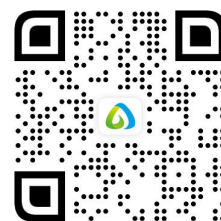
### 05-3 实验步骤

1. **酶标仪准备**：预热 30 min 以上，调节波长到 340 nm。
2. **工作液的配制**：临用前配制；每孔配制 180  $\mu$ L 工作液：吸取 16  $\mu$ L Working NADPH, 4  $\mu$ L Working Acetyl CoA, 8  $\mu$ L Working Malonyl CoA 和 152  $\mu$ L Assay Buffer。工作液需现配现用，根据需要测定的样本数按比例配制，测定前在 37℃ 孵育 15 min 以上。
3. **检测体系配制**：在 96 孔 UV 板中依次加入 20  $\mu$ L 样本和 180  $\mu$ L 工作液。
4. **吸光度检测**：加入工作液后，立即混匀测定 340 nm 处吸光值。记录第 10 s 和 70 s 时吸光值，分别记录为  $A_1$  和  $A_2$ 。

## 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  $\Delta A_{\text{测}} = A_1 - A_2$ 。

#### 2. 样本 FAS 活性计算

##### ● 按样本质量计算

活性单位定义：每 g 组织每分钟氧化 1 nmol NADPH 为 1 个酶活单位。

$$\text{FAS 酶活(U/g 鲜重)} = (\Delta A_{\text{测}} \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \times 10^9) \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 3215 \times \Delta A_{\text{测}} \div W$$

##### ● 按细胞或细菌数量计算：

活性单位定义：每  $10^4$  个细胞或细菌每分钟氧化 1 nmol NADPH 为 1 个酶活单位。

$$\text{FAS 酶活(U/10}^4\text{)} = (\Delta A_{\text{测}} \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \times 10^9) \div (N \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 3215 \times \Delta A_{\text{测}} \div N$$

##### ● 按液体体积计算

活性单位定义：每 mL 样本每分钟氧化 1 nmol NADPH 为 1 个酶活单位。

$$\text{FAS 酶活(U/mL)} = (\Delta A_{\text{测}} \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \times 10^9) \div V_{\text{样}} \div T = 3215 \times \Delta A_{\text{测}}$$

##### ● 按蛋白浓度计算

活性单位定义：每 mg 蛋白每分钟氧化 1 nmol NADPH 为 1 个酶活单位。

$$\text{FAS 酶活(U/mg prot)} = (\Delta A_{\text{测}} \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \times 10^9) \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div T = 3215 \times \Delta A_{\text{测}} \div \text{Cpr}$$

$\epsilon$ ：NADPH 摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3$  L/mol/cm； $d$ ：96 孔 UV 板光径，0.5 cm； $V_{\text{反总}}$ ：反应体系总体积，L，200  $\mu$ L =  $2 \times 10^{-4}$  L； $10^9$ ：1 mol =  $1 \times 10^9$  nmol；Cpr：蛋白浓度，mg/mL； $V_{\text{样}}$ ：加入上清液体积，0.02 mL；T：反应

时间, 1 min; W: 样品质量, g;  $V_{\text{样总}}$ : 提取液体积, 1 mL; N: 细胞或细菌数量, 以  $10^4$  为单位 (例如细胞或细菌数量为  $5 \times 10^6$ ,  $N=500$ )。

07 结果展示

示例 -1: 取 0.1 g 小鼠脾脏, 按照测定步骤操作, 用 96 孔 UV 板进行检测。测得  $\Delta A_{\text{测}} = A_1 - A_2 = 0.8564 - 0.8543 = 0.0021$ 。按样本质量计算得:  $\text{FAS (U/g)} = 3215 \times \Delta A_{\text{测}} \div W = 67.52 \text{ U/g}$ 。

08 FAQ

- 检测得到的样本 $\Delta A_{\text{测}}$ 过高或者过低怎么办?  
如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 小于 0.0005 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 大于 0.4, 样本可用 Extraction Buffer 进一步稀释, 或减少提取用样本量, 再重新进行测定。

09 相关产品

| 货号      | 试剂盒名称                              |
|---------|------------------------------------|
| KTB2210 | CheKine™ 游离胆固醇 (FC) 检测试剂盒 (微量法)    |
| KTB2220 | CheKine™ 总胆固醇 (TC) 检测试剂盒 (微量法)     |
| KTB2230 | CheKine™ 游离脂肪酸 (FFA) 含量检测试剂盒 (微量法) |

# CheKine™ 脂肪酸合成酶（FAS）活性检测流程示意图

(Abbkin 货号：KTB2240)

