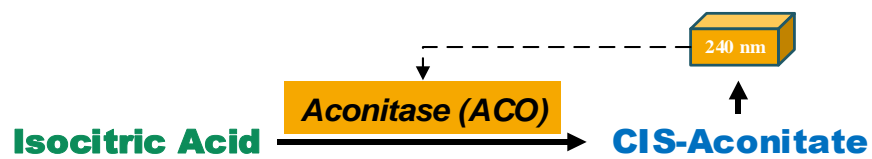




顺乌头酸酶 (ACO) 活性检测试剂盒  
Aconitase (ACO) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司  
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



北京盒子生工科技有限公司  
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



## 顺乌头酸酶 (ACO) 活性检测试剂盒

### Aconitase (ACO) Activity Assay Kit

#### 一、产品描述

顺乌头酸酶 (Aconitase) 又称乌头酸水合酶, 作为胞浆与线粒体中重要的铁硫蛋白酶, 能够催化顺乌头酸生成柠檬酸或异柠檬酸的立体专一性的可逆反应, 对维持三羧酸循环及乙醛酸循环的顺利进行起着重要作用。

顺乌头酸酶能够催化异柠檬酸生成顺乌头酸, 顺乌头酸在 240 nm 处具有特征吸收峰, 通过吸光值的变化即可表征顺乌头酸酶的活性。

#### 二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体 80 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂二	液体 35 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂三	液体 600 μL×2 支	-20°C保存	易挥发组分 (使用后及时密封置于-20°C保存)
试剂四	液体 50 mL×1 瓶	4°C保存	-

#### 三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 紫外分光光度计、1 mL 石英比色皿 (光径 10 mm)、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

##### 1. 顺乌头酸酶的提取 (可根据预实验结果适当调整样本量及比例)

###### 1.1 总顺乌头酸酶的提取

称取 0.1 g 组织或收集 500 万细胞或细菌, 加入 1 mL 试剂一与 10 μL 试剂三, 使用匀浆器或研钵冰浴研磨至匀浆, 冰浴超声破碎 (功率 300 W, 超声 3 s, 间隔 9 s, 重复 15 次), 4°C 11000 g 离心 15 min, 取上清置于冰上, 可用于测定总顺乌头酸酶的活性 (建议蒸馏水稀释 5-10 倍后再进行测定)。

###### 1.2 胞浆与线粒体顺乌头酸酶的提取

①称取约 0.3 g 组织或收集 1500 万细胞, 加入 1.5 mL 试剂一和 15 μL 试剂三, 使用匀浆器或研钵冰浴研磨至匀浆, 匀浆液 4°C 600 g 离心 5 min, 弃沉淀, 留上清;

②将匀浆液离心上清液移至另一离心管中，4°C 11000 g 离心 15 min；

③步骤②离心后上清液即胞浆提取物，胞浆中顺乌头酸酶活性（建议蒸馏水稀释 5-10 倍后再进行测定）；

④步骤②离心后沉淀中加入 600 μL 试剂二和 6 μL 试剂三，冰浴超声破碎（功率 300 W，超声 3 s，间隔 9 s，重复 15 次），4°C 5000 g 离心 2 min，取上清置于冰上待测，用于测定线粒体中顺乌头酸酶活性（建议蒸馏水稀释 5-10 倍后再进行测定）。

注：根据实验要求选择性提取总顺乌头酸酶、胞浆乌头酸酶或线粒体乌头酸酶。

## 2.测定步骤

①紫外分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 240 nm，蒸馏水调零。

②试验前将试剂四 25°C 预热 15 min 以上。

③在 1 mL 石英比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)
试剂四	900
待测样本	100

吸光值测定：①加入待测样本的同时开始计时，测定 10 s（总时间）时 240 nm 处吸光值，记为 A1；②25°C 准确反应 300 s，测定 310 s（总时间）时 240 nm 处吸光值，记为 A2；③计算  $\Delta A = A_2 - A_1$ 。

## 3.顺乌头酸酶（ACO）活性计算

### 3.1 总顺乌头酸酶活性计算

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟生成 1 nmol 顺乌头酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{ACO (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times D \times 10^6}{\epsilon \times d \times C_{\text{prA}} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{555.6 \times \Delta A \times D}{C_{\text{prA}}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟生成 1 nmol 顺乌头酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{ACO (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}} \times D \times 10^6}{\epsilon \times d \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{561.1 \times \Delta A \times D}{W}$$

### ③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每  $10^4$  个细菌或细胞每分钟生成 1 nmol 顺乌头酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{ACO (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}} \times D \times 10^6}{\epsilon \times d \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{561.1 \times \Delta A \times D}{\text{细菌或细胞数量}}$$

**注释：** V 样：反应体系中加入待测样本的体积，0.1 mL；V 反总：反应体系总体积， $1 \times 10^{-3}$  L； $\epsilon$ ：顺乌头酸消光系数，3.6 L/mmol /cm；d：1 mL 石英比色皿光径，1 cm；V 提：待测样本总体积，1.01 mL；T：反应时间，5 min；CprA：样本蛋白浓度，mg/mL； $10^6$ ：单位换算系数，1 mmol= $1 \times 10^6$  nmol；D：待测样本稀释倍数。

## 3.2 胞浆顺乌头酸酶活性计算

### ①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟生成 1 nmol 顺乌头酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{ACO (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}} \times D \times 10^6}{\epsilon \times d \times \text{CprB} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{555.6 \times \Delta A \times D}{\text{CprB}}$$

### ②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟生成 1 nmol 顺乌头酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{ACO (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}} \times D \times 10^6}{\epsilon \times d \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{841.7 \times \Delta A \times D}{W}$$

### ③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每  $10^4$  个细菌或细胞每分钟生成 1 nmol 顺乌头酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{ACO (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}} \times D \times 10^6}{\epsilon \times d \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{841.7 \times \Delta A \times D}{\text{细菌或细胞数量}}$$

**注释：** V 样：反应体系中加入待测样本的体积，0.1 mL；V 反总：反应体系总体积， $1 \times 10^{-3}$  L； $\epsilon$ ：顺乌头酸消光系数，3.6 L/mmol /cm；d：1 mL 石英比色皿光径，1 cm；V 提：胞浆样本总体积，1.515 mL；T：反应时间，5 min；CprB：样本蛋白浓度，mg/mL； $10^6$ ：单位换算系数，1 mmol= $1 \times 10^6$  nmol；D：待测样本稀释倍数。

## 3.3 线粒体顺乌头酸酶活性计算

### ①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟生成 1 nmol 顺乌头酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{ACO (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times D \times 10^6}{\epsilon \times d \times \text{CprB} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{555.6 \times \Delta A \times D}{\text{CprB}}$$

### ②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟生成 1 nmol 顺乌头酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{ACO (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}} \times D \times 10^6}{\epsilon \times d \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{336.7 \times \Delta A \times D}{W}$$

### ③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每  $10^4$  个细菌或细胞每分钟生成 1 nmol 顺乌头酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{ACO (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}} \times D \times 10^6}{\epsilon \times d \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{336.7 \times \Delta A \times D}{\text{细菌或细胞数量}}$$

**注释：** V 样：反应体系中加入待测样本的体积，0.1 mL；V 反总：反应体系总体积， $1 \times 10^{-3}$  L； $\epsilon$ ：顺乌头酸消光系数，3.6 L/mmole/cm；d：1 mL 石英比色皿光径，1 cm；V 提：线粒体样本总体积，0.606 mL；T：反应时间，5 min；CprB：样本蛋白浓度，mg/mL； $10^6$ ：单位换算系数，1 mmole= $1 \times 10^6$  nmol；D：待测样本稀释倍数。

## 四、注意事项

- ①若测定吸光值大于1.0时，建议将待测样本适当稀释后再进行测定；若 $\Delta A$ 小于0.01，可适当延长反应时间后再进行测定，计算时相应修改；
- ②由于试剂一中含有1 mg/mL蛋白，测定样本蛋白浓度时需要扣除试剂一自身的蛋白含量；
- ③准确在相应时间点完成吸光值的测定，以确保结果的准确性；
- ④为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

**For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.**

**Note:**

---

**boxbio**

**Manufactured and Distributed by**

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.  
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: [techsupport@boxbio.cn](mailto:techsupport@boxbio.cn)

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

