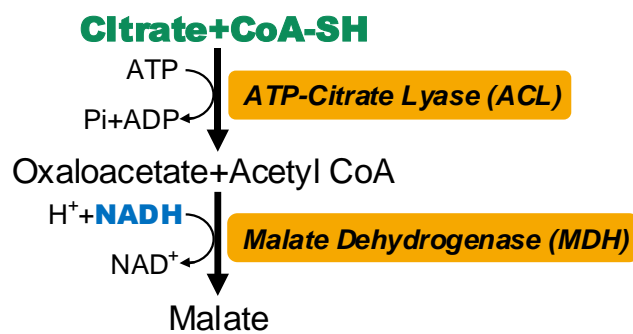




ATP-柠檬酸裂解酶 (ACL) 活性检测试剂盒
ATP-Citrate Lyase (ACL) Activity Assay Kit



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



ATP-柠檬酸裂解酶 (ACL) 活性检测试剂盒

ATP-Citrate Lyase (ACL) Activity Assay Kit

一、产品描述

ATP-柠檬酸裂解酶 (ACL) 是糖代谢、脂肪酸生物合成和三羧酸循环的关键酶，负责将柠檬酸和辅酶 A 转化为乙酰 CoA 和草酰乙酸，同时伴随 ATP 的水解，其作用底物和产物是糖代谢中的关键中间产物，也是体内能源物质代谢和脂肪酸代谢的枢纽性物质，在生物体代谢过程中发挥了重要作用。

ATP-柠檬酸裂解酶能够在 ATP 和辅酶 A 存在的情况下催化柠檬酸裂解为乙酰辅酶 A、草酰乙酸、ADP 和磷酸盐，苹果酸脱氢酶进一步催化草酰乙酸和 NADH 生成苹果酸和 NAD^+ ，NADH 在 340 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征 ATP-柠檬酸裂解酶的活性。

二、产品内容

名称		试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	A 液	液体 110 mL×1 瓶	4°C 保存	使用前按 A 液:B 液= 990:10 的体积比配制 (根据使用量现用现配)
	B 液	液体 0.6 mL×2 支	-20°C 保存	
试剂一		液体 30 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二		粉剂×1 支	-20°C 保存	使用前加入 0.5 mL 试剂一充分溶解 (分装后-20°C可保存一个月，避免反复冻融)
试剂三		粉剂×1 瓶	-20°C 保存	使用前加入 2.25 mL 试剂一充分溶解 (分装后-20°C可保存一个月，避免反复冻融)
试剂四		粉剂×1 支	-20°C 保存	使用前加入 0.5 mL 试剂一充分溶解 (分装后-20°C可保存一个月，避免反复冻融)
试剂五		粉剂×1 支	-20°C 保存	使用前加入 0.5 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C可保存一个月，避免反复冻融)

(注：禁止将提取液 B 一次性全部加入提取液 A 混匀分装使用)

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：酶标仪、96 孔 UV 板、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.粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量(10^4 个)：提取液体积(mL)为(500-1000)：1的比例（建议500万细菌或细胞加入1 mL提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率300 W，超声3 s，间隔7 s，总时间3 min），4°C 8000 g离心10 min，取上清置于冰上待测。

②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0.1 g组织，加入1 mL提取液）处理样品，冰浴匀浆，4°C 8000 g离心10 min，取上清置于冰上待测。

③血清（浆）、培养液等液体样本：直接检测或适当稀释后进行检测。

2.测定步骤

①酶标仪预热30 min以上，调节波长至340 nm。

②试验前将试剂一37°C预热10 min。

③试剂五应用液的制备（现用现配）：使用前根据使用量按试剂五：蒸馏水=1:32体积比配制；

④在96孔UV板中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	空白组 (μL)
试剂一	152	152
试剂二	4	4
试剂三	20	20
试剂四	4	4
试剂五应用液	10	10
粗酶液	10	-
蒸馏水	-	10

吸光值测定：①立即混匀并开始计时，测定10 s时340 nm处吸光值，记为A1测定和A1空白；②37°C恒温准确反应120 s，测定130 s时340 nm处吸光值，记为A2测定和A2空白；③计算 ΔA 测定=A1测定-A2测定， ΔA 空白=A1空白-A2空白， $\Delta A = \Delta A$ 测定- ΔA 空白。

注：①空白组只需测定1-2次；②若同时测定较多样本，可根据样本量按试剂一：试剂二：试剂三：试剂四：试剂五应用液=152：4：20：4：10的体积比配制为工作液使用（现用现配）。

3. ATP-柠檬酸裂解酶 (ACL) 活性计算

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ACL (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{3215.43 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ACL (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{3215.43 \times \Delta A}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细胞或细菌每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ACL (U}/10^4\text{cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{3215.43 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体每分钟消耗 1 nmol NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{ACL (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times T} = 3215.43 \times \Delta A$$

注释： V 反总：反应体系总体积， 2×10^{-4} L；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.01 mL； ϵ ：NADH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm；d：96 孔 UV 板光径，0.5 cm；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细胞或细菌数量，以万计；T：反应时间，2 min； 10^9 ：单位换算系数， $1 \text{ mol} = 10^9 \text{ nmol}$ 。

四、注意事项

①准确在 10 s 和 130 s 处完成测定，以确保结果准确和重复性；

②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.

