

脂肪酸合成酶（Fatty acid synthetase, FAS）试剂盒说明书

（货号:G0923F 紫外法 24 样）

一、产品简介：

脂肪酸合成酶（FAS, EC 2.3.1.85）是脂肪酸合成关键酶，催化乙酰辅酶 A 和丙二酰辅酶 A 而生成长链脂肪酸。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。

FAS 催化乙酰 CoA、丙二酰 CoA 和 NADPH 生成长链脂肪酸和 NADP⁺；NADPH 在 340nm 有吸收峰，通过测定 340nm 光吸收下降速率，进而计算 FAS 活性大小。

二、测试盒组成和配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 50mL×1 瓶	4℃ 保存	用前摇匀再用。
试剂一	粉剂 mg×1 支	-20℃ 保存	用前甩几下或离心使粉剂落入底部，加 0.6mL 蒸馏水溶解备用。用不完的试剂分装后-20℃ 保存，禁止反复冻融。
试剂二	粉剂 mg×2 支	-20℃ 保存	用前甩几下或离心使粉剂落入底部，分别加 0.3mL 蒸馏水溶解备用。用不完的试剂分装后-20℃ 保存，禁止反复冻融，一周内用完。
试剂三	液体 18mL×1 瓶	4℃ 保存	
试剂四	粉剂 mg×1 支	4℃ 保存	用前甩几下或离心使粉剂落入底部，加 0.6mL 蒸馏水溶解备用。用不完的试剂分装后-20℃ 保存，禁止反复冻融。

三、所需的仪器和用品：

紫外分光光度计、1mL 石英比色皿（光径 1cm）、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、研钵、冰。

四、脂肪酸合成酶（FAS）活性测定：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本制备：

① 组织样本：

取约 0.1g 组织（水分充足的果实样本可取 0.2-0.3g），加入 1mL 提取液（用前摇匀再用），进行冰浴匀浆，13000rpm，4℃ 离心 15min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例进行提取。

② 细菌/细胞样本：

先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取约 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液，超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；12000rpm 4℃ 离心 15min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照细菌/细胞数量（10⁴）：提取液（mL）为 500~1000：1 的比例进行提取。

2、上机检测：

① 紫外分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 340nm，蒸馏水调零。

② 所有试剂解冻至室温（25℃），在 1mL 石英比色皿（光径 1cm）中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管
样本	60
试剂一	20

试剂二	20
试剂三	580
混匀，室温（25℃）孵育反应 10min。	
试剂四	20
混匀，室温（25℃）于 340nm 处立即读取 A1，15min 后读取 A2。ΔA=A1-A2。	

- 【注】1. 若ΔA 值低于 0.008，可增加样本加样体积 V1（如增至 100μL，则试剂三相应减少，单需控制 A1 值低于 2）或延长孵育时间（如延长至 30min）再读取 A2 值。
2. 若 A1 值超过 2，需减少样本加样体积 V1（如减至 40μL，则试剂三相应增加），且ΔA 应小于 0.3。
3. 若下降趋势不稳定，可以每隔 20S 读取一次吸光值，选取一段线性下降的时间段来参与计算，相对应的 A 值也代入计算公式重新计算。

五、结果计算：

1、按样本蛋白浓度计算：

单位定义：每毫克组织蛋白每分钟氧化 1nmol NADPH 定义为一个酶活单位。

$$FAS(\text{nmol}/\text{min}/\text{mg prot})=[\Delta A \times V2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V1 \times Cpr) \div T = 125 \times \Delta A \div Cpr$$

2、按样本鲜重计算：

单位定义：每克组织在每分钟内氧化 1nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$FAS(\text{nmol}/\text{min}/\text{g 鲜重})=[\Delta A \times V2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V1 \div V) \div T = 125 \times \Delta A \div W$$

3、按细菌/细胞数量计算：

单位定义：每 10⁴ 个细胞在每分钟内氧化 1nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$FAS(\text{nmol}/\text{min}/10^4 \text{ cell})=[\Delta A \times V2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V1 \div V) \div T = 0.25 \times \Delta A$$

V---加入提取液体积，1 mL；

V1---加入样本体积，0.06mL；

V2---反应体系总体积，7×10⁻⁴ L；

d---光径，1cm；

ε---NADPH 摩尔消光系数，6.22×10³ L / mol /cm；

W---样本质量，g；

T---反应时间，15min；

500---细胞数量，百万；

Cpr---蛋白浓度（mg/mL），建议使用本公司的 BCA 蛋白含量测定试剂盒。