

半胱氨酰亚砷裂解酶（CSL）活性检测试剂盒（微量法）

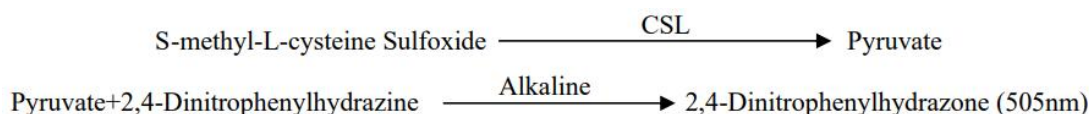
产品货号：BA2091

产品规格：100T/48S

产品简介：

半胱氨酰亚砷裂解酶，简称蒜酶，又名蒜氨酸酶。半胱氨酰亚砷裂解酶几乎存在于所有葱属植物中，如大蒜，洋葱，韭菜等。蒜氨酸酶存在于液泡内，其天然底物蒜氨酸存在于细胞质中；蒜氨酸酶与蒜氨酸接触并催化产生蒜素和顺、反式阿霍烯并生成丙酮酸和氨等副产物，也是大蒜等植物辛辣气味的主要来源。

半胱氨酰亚砷裂解酶可以催化S-甲基-L-半胱氨酸亚砷生成丙酮酸。丙酮酸可与2,4-二硝基苯肼反应生成2,4-二硝基苯腙，在碱性条件下显棕红色；测定505nm吸光度的变化，即可计算CSL酶活性。



注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体60mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体1.5mL×1支	2-8℃
试剂二	粉剂×1瓶	2-8℃
试剂三	液体3mL×1瓶	2-8℃
试剂四	液体3mL×1瓶	2-8℃
试剂五	液体12mL×1瓶	2-8℃
标准品	液体1mL×1支	2-8℃

溶液的配制：

1. 试剂二：试剂放于试剂瓶内玻璃瓶中。临用前加入4mL蒸馏水溶解，-20℃分装可保存4周，避免反复冻融。
2. 试剂二工作液：临用前根据样本量将试剂二用蒸馏水稀释5000倍，现用现配。
3. 标准品：20μmol/mL丙酮酸钠标准液。
4. 0.625μmol/mL丙酮酸钠标准液的配制：临用前取30μL的20μmol/mL标准液于EP管中，加入930μL蒸馏水充分溶解，配制成0.625μmol/mL的丙酮酸钠标准液备用。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅/恒温培养箱、台式离心机、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵/匀浆器、蒸馏水和冰。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 组织样本：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为1：5~10的比例（建议称取约0.1g组织，加入1mL提取液），进行冰浴匀浆，4℃浸提30分钟。12000g 4℃离心10min，取上清，置冰上待测。
2. 液体样本：直接测定。（若溶液呈现浑浊，则离心取上清后再测定）。

二、测定步骤



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

1. 可见分光光度计/酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 505nm，可见分光光度计用蒸馏水调零。
2. 操作表：（在 1.5mLEP 管或者 96 孔板中加入下列试剂）：

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	标准管	标准空白管
样本	20	20	-	-
标准品	-	-	20	-
试剂一	20	-	-	-
试剂二工作液	20	20	20	20
蒸馏水	-	20	20	40
混匀后，37°C反应 30min				
试剂三	20	20	20	20
试剂四	20	20	20	20
混匀后，37°C反应 30min				
试剂五	100	100	100	100
混匀，室温放置 10min，在 505nm 波长处测各管吸光度。记作 A 测定，A 对照，A 标准，A 标准空白。 ΔA 测定=A 测定-A 对照， ΔA 标准=A 标准-A 标准空白。（标准管和标准空白管只需做 1-2 次。）				

三、CSL 活性计算

(1) 按样本蛋白浓度计算

单位的定义：37°C，每 mg 组织蛋白每分钟催化产生 1μmol 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{CSL 活性 (U/mg prot)} = (\Delta A \text{ 测定} \times C \text{ 标准} \div \Delta A \text{ 标准}) \times V \text{ 样} \div (V \text{ 样} \times C_{\text{pr}}) \div T \times F$$

$$= 0.0208 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \div C_{\text{pr}} \times F$$

(2) 按样本质量计算

单位的定义：37°C，每 g 组织每分钟催化产生 1μmol 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{CSL 活性 (U/g 质量)} = (\Delta A \text{ 测定} \times C \text{ 标准} \div \Delta A \text{ 标准}) \times V \text{ 样} \div (V \text{ 样} \div V \text{ 样总} \times W) \div T \times F$$

$$= 0.0208 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \div W \times F$$

(3) 按血清（浆）等液体体积计算

单位的定义：每 mL 血清（浆）等液体每分钟催化产生 1μmol 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{CSL 活性 (U/mL)} = (\Delta A \text{ 测定} \times C \text{ 标准} \div \Delta A \text{ 标准}) \times V \text{ 样} \div V \text{ 样} \div T \times F$$

$$= 0.0208 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \times F$$

C 标准：丙酮酸钠标准液的浓度，0.625μmol/mL；V 样：反应体系中加入的样本体积，0.02mL；V 样总：加入的提取液体积，1mL；T：反应时间，30min；C_{pr}：蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；F：样本稀释倍数。

注意事项：

1. 如果测定结果 ΔA 测定 > 1，可以对样本用蒸馏水进行稀释或者缩短第一步反应时间；吸光值较小，可以加大样本量或者延长第一步反应时间至 1h 或者更长时间。注意计算时同步修改计算公式。
2. 对于初次测定样本，建议将样本匀浆液用蒸馏水进行梯度稀释后测定，选取最佳的稀释倍数。洋葱、香菇、大蒜类样本建议直接稀释 4-10 倍后再进行最佳稀释倍数摸索。（实验室洋葱进行了 8 倍稀释，蒜进行了 64 倍稀释）



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com