



半胱氨酰亚砷裂解酶(CSL)活性检测试剂盒(可见分光光度法)

中文名称：**半胱氨酰亚砷裂解酶(CSL)活性检测试剂盒(可见分光光度法)**

英文名称：CysteinyI Sulfoxide Lyase(CSL)Activity Assay Kit

产品包装：盒装

产品规格：50T/24S

储存条件：2-8℃

检测方法：可见分光光度法

有效期：6个月

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 30mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 3.5mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 7mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四	液体 7mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂五	液体 35mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	液体 1mL×1 支	2-8℃保存

溶液的配制：

- 1、试剂二：试剂放于试剂瓶内 EP 管中。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。

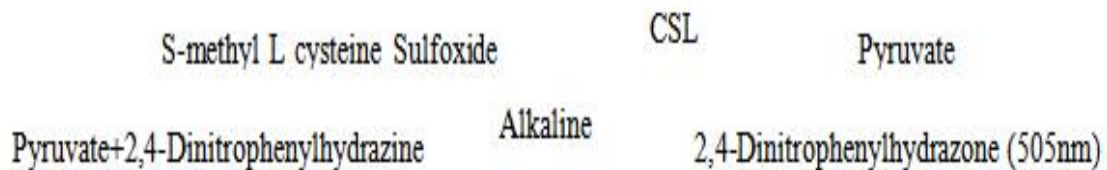


4、0.625 μ mol/mL 丙酮酸钠标准液的配制：临用前取 30 μ L 的 20 μ mol/mL 标准液于 EP 管中，加入 930 μ L 蒸馏水充分溶解，配制成 0.625 μ mol/mL 的丙酮酸钠标准液备用。

产品说明：

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。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、水浴锅/恒温培养箱、台式离心机、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、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)

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 $^{\circ}$ C 浸提 30 分钟。12000g 4 $^{\circ}$ C 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

1、可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 505nm，用蒸馏水调零。

2、操作表(1.5mLEP 管内操作)：

试剂名称(μL)	测定管	对照管	标准管	标准空白管
样本	100	100	-	-
标准品	-	-	100	-
试剂一	100	-	-	-
试剂二工作液	100	100	100	100
蒸馏水	-	100	100	200
混匀后，37°C反应 30min				
试剂三	100	100	100	100
试剂四	100	100	100	100
混匀后，37°C反应 30min				
试剂五	500	500	500	500

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。

CSL 活性(U/mgprot)=(ΔA 测定×C 标准÷ ΔA 标准)×V 样÷(V 样×Cpr)÷T×F=0.0208× ΔA 测定÷ ΔA 标准÷Cpr×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。



CSL 活性(U/g 质量)=(ΔA 测定 $\times C$ 标准 $\div \Delta A$ 标准) $\times V$ 样 $\div (V$ 样 $\div V$ 样总 $\times W) \div T \times F = 0.0208 \times$

ΔA 测定 $\div \Delta A$ 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 1 μ mol 丙酮酸定义为一个酶活力单位。

CSL 活性(U/mL)=(ΔA 测定 $\times C$ 标准 $\div \Delta A$ 标准) $\times V$ 样 $\div V$ 样 $\div T \times F = 0.0208 \times \Delta A$ 测定 $\div \Delta A$ 标准 $\times F$

C 标准:丙酮酸钠标准液的浓度, 0.625 μ mol/mL; V 样: 反应体系中加入的样本体积, 0.1mL;

V 样总: 加入的提取液体积, 1mL; T: 反应时间, 30min; Cpr: 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)

实验实例:

1、称取 0.1233g 蒜样本, 加入提取液进行冰浴匀浆, 对上清用蒸馏水稀释 64 倍, 按照测定步骤操作, 用 1mL 玻璃比色皿测得计算 ΔA 测定=A 测定-A 对照=0.689-0.184=0.505, ΔA 标准=A 标准-A 标准空白=0.738-0.026=0.712, 带入公式计算:

CSL 活性(U/g 质量)=0.0208 $\times \Delta A$ 测定 $\div \Delta A$ 标准 $\div W \times F = 7.658$ U/g 质量。

2、称取 0.1263g 洋葱样本, 加入提取液进行冰浴匀浆, 对上清稀释 4 倍, 按照测定步骤操作, 用 1mL 玻璃比色皿测得计算 ΔA 测定=A 测定-A 对照=0.66-0.411=0.249, ΔA 标准=A 标准



-A 标准空白=0.738-0.026=0.712, 带入公式计算:

CSL 活性(U/g 质量)=0.0208×ΔA 测定÷ΔA 标准÷W×F=0.230U/g 质量。