

CheKine™ 半胱氨酰亚砷裂解酶 (CSL) 活性检测试剂盒 (微量法)

Cat #: KTB3013

Size: 48 T/48 S 96 T/96 S

	半胱氨酰亚砷裂解酶 (CSL) 活性检测试剂盒 (微量法)		
REF	货号: KTB3013	LOT	批号: 见产品标签
	检测范围: 0.05-2 $\mu\text{mol/mL}$		灵敏度: 0.05 $\mu\text{mol/mL}$
	适用样本: 植物组织、液体		
	保质期: -20°C, 避光保存 6 个月		

原理

半胱氨酰亚砷裂解酶 (CysteinyI sulfoxide lyase, CSL), 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。CheKine™ 半胱氨酰亚砷裂解酶 (CSL) 活性检测试剂盒 (微量法) 可检测植物组织或液体等生物样本。在该试剂盒中, CSL 催化 S-甲基-L-半胱氨酸亚砷反应产生丙酮酸, 与 2,4-二硝基苯肼反应, 在碱性条件下显棕红色, 在 510 nm 下有特征吸收峰。

包装清单

试剂盒组分	规格		储存条件
	48 T	96 T	
Extraction Buffer	80 mL	80 mL×2	4°C
Reagent I	Powder×1 vial	Powder×1 vial	-20°C, 避光保存
Reagent II	Powder×1 vial	Powder×1 vial	-20°C, 避光保存
Reagent III	7.5 mL	15 mL	4°C, 避光保存
Reagent IV	3 mL	6 mL	4°C, 避光保存
Reagent V	15 mL	30 mL	4°C
Standard	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4°C, 避光保存

注意: 正式检测前, 建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。

自备耗材

- 酶标仪或可见分光光度计 (能测 510 nm 处的吸光度)
- 96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头、1.5 mL 离心管

- 恒温箱、制冰机、低温离心机
- 去离子水
- 匀浆器或研钵（如果是组织样本）

试剂准备

Extraction Buffer: 即用型；使用前，平衡到室温。4℃保存。

Working Reagent I: 临用前配制；48 T 加入 1 mL 去离子水，96 T 加入 2 mL 去离子水，充分溶解待用。用不完的试剂-20℃避光分装保存 1 个月，避免反复冻融。

Working Reagent II: 临用前配制；48 T/96 T 均加入 50 mL 去离子水，充分溶解待用。用不完的试剂-20℃避光分装保存 1 个月，避免反复冻融。

Reagent III: 即用型；使用前，平衡到室温。4℃避光保存。

Reagent IV: 即用型；使用前，平衡到室温。4℃避光保存。

Reagent V: 即用型；使用前，平衡到室温。4℃保存。

Standard: 临用前配制；每瓶加入 1 mL 去离子水，充分溶解，即 20 μmol/mL 丙酮酸钠 Standard；使用前，平衡到室温。4℃避光保存 1 个月。使用 20 μmol/mL 丙酮酸钠 Standard，按照下表所示，进一步稀释标准品：

序号	Standard 体积 (μL)	去离子水体积 (μL)	浓度 (μmol/mL)
Std.1	100 μL of 20 μmol/mL Standard	900	2
Std.2	800 μL of Std.1 (2 μmol/mL)	200	1.6
Std.3	500 μL of Std.2 (1.6 μmol/mL)	500	0.8
Std.4	500 μL of Std.3 (0.8 μmol/mL)	500	0.4
Std.5	500 μL of Std.4 (0.4 μmol/mL)	500	0.2
Std.6	500 μL of Std.5 (0.2 μmol/mL)	500	0.1
Std.7	500 μL of Std.6 (0.1 μmol/mL)	500	0.05
Blank	0	500	0

注意：每次实验都要做一次标准品检测；稀释后的标准品溶液不稳定，必须在 4 小时内使用。

样本制备

注意：建议使用新鲜样本。如果不立即使用，可将样品在-80℃下保存一个月。测定时，应控制解冻的温度和时间。室温环境下解冻时，需在 4 h 内完成样品解冻。

1. 植物组织：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Extraction Buffer，用匀浆器或研钵冰浴匀浆，4℃浸提 40 min。15,000 g，4℃离心 10 min，取上清液，置冰上待测。

2. 液体：直接检测。若溶液呈现浑浊，15,000 g，4℃离心 10 min，取上清液，置冰上待测。

注意：如需测定蛋白浓度，推荐使用 Abbkine 货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

- 酶标仪或可见光分光光度计预热 30 min 以上，调节波长到 510 nm，可见光分光光度计用去离子水调零。
- 操作表（下述操作在 96 孔板或微量玻璃比色皿进行）：

试剂	测定孔 (μL)	对照孔 (μL)	标准孔 (μL)	空白孔 (μL)
样本	20	20	0	0



Standard	0	0	20	0
去离子水	0	10	10	30
Working Reagent I	10	0	0	0
Working Reagent II	10	10	10	10
混匀，37°C 孵育 20 min				
Reagent III	40	40	40	40
Reagent IV	20	20	20	20
混匀，25°C 孵育 5 min				
Reagent V	100	100	100	100

3. 混匀，25°C静置 5 min，记录 510 nm 处吸光值，空白孔记为 A_{空白}，标准孔记为 A_{标准}，对照孔记为 A_{对照}，测定孔记为 A_{测定}。计算ΔA_{测定}=A_{测定}-A_{对照}，ΔA_{标准}=A_{标准}-A_{空白}。

注意：(1) 空白孔和标准孔只需做 1-2 次，每个测定孔均需设置一个对照孔。(2) 实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。实验时大蒜鳞茎进行了 40 倍稀释，韭叶进行了 2 倍稀释。(3) 如果ΔA_{测定}小于 0.01 可适当加大样本量。如果ΔA_{测定}大于 2 μmol/mL 的ΔA_{标准}，样本可用 Extraction Buffer 进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。

结果计算

注意：我们为您提供的计算公式，包括推导过程计算公式和简洁计算公式。两者完全相等。建议以加粗的简洁计算公式为最终计算公式。

1. 标准曲线的绘制

以标准溶液浓度为 x 轴，ΔA_{标准} 为 y 轴，绘制标准曲线，得到标准方程，将ΔA_{测定}代入方程得到 x (μmol/mL)。

2. CSL 活性的计算：

(1) 按蛋白浓度计算

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

$$CSL\ (U/mg\ 蛋白)=(V_{样}\times x)\div(V_{样}\times Cpr)\div T\times F=0.05x\div Cpr\times F$$

(2) 按样本鲜重计算：

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

$$CSL\ (U/g\ 鲜重)=(V_{样}\times x)\div(W\times V_{样}\div V_{样总})\div T\times F=0.05x\div W\times F$$

(3) 按样本体积计算：

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

$$CSL\ (U/mL)=(V_{样}\times x)\div V_{样}\div T\times F=0.05x\times F$$

V_样：加入反应体系中样本体积，0.02 mL；V_{样总}：加入 Extraction Buffer 体积，1 mL；T：反应时间：20 min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；F：样本稀释倍数。

结果展示

以下数据仅供参考，实验者需根据自己的实验对样品进行检测。



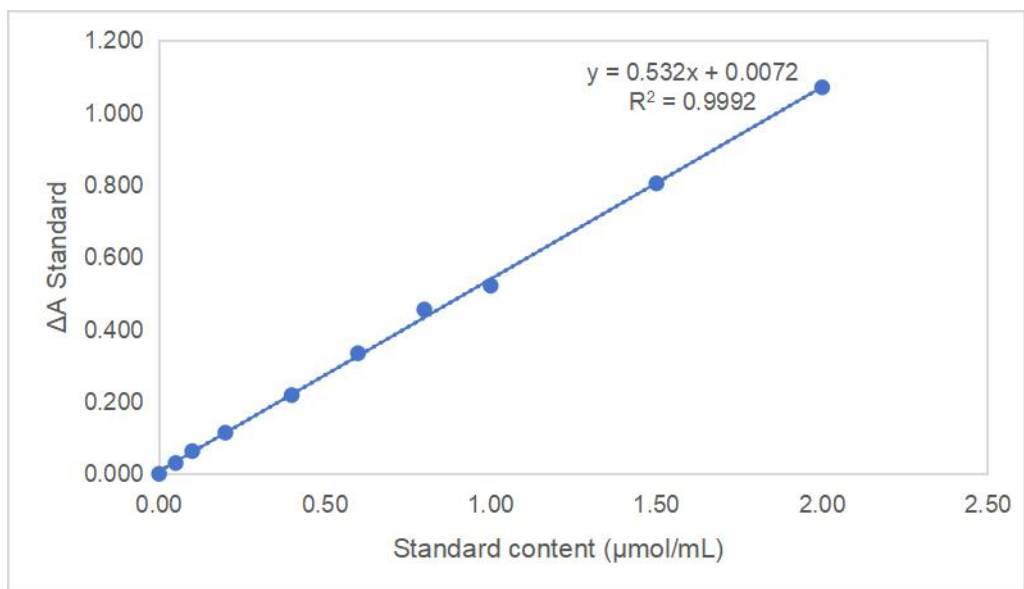


Figure 1. CSL 活性标准曲线

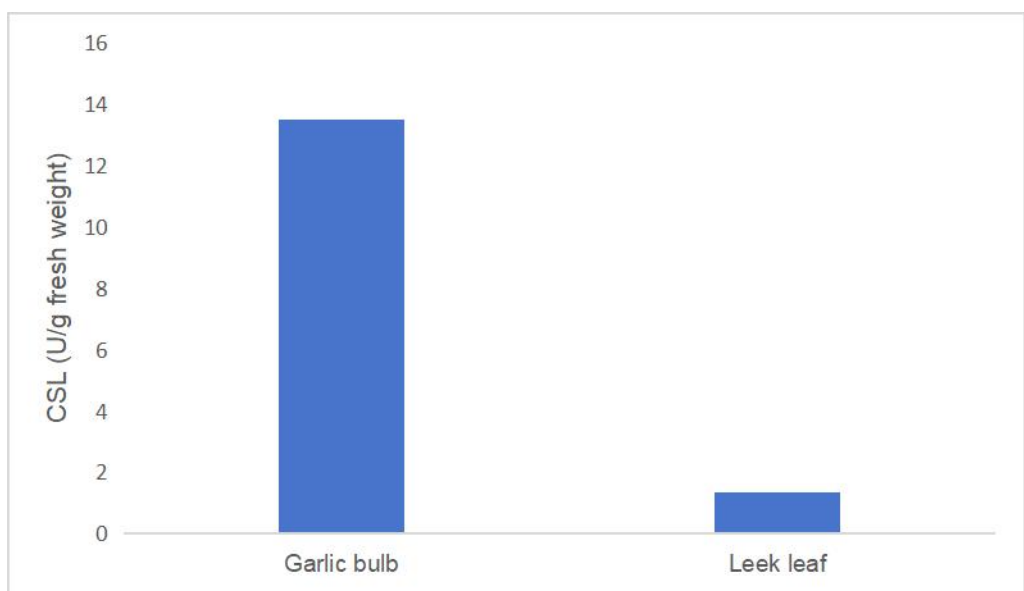


Figure 2. 本试剂盒测定大蒜鳞茎和韭叶中 CSL 的活性。

相关产品

Catalog No.	Product Name
KTB1150	CheKine™ 过氧化物酶（POD）活性检测试剂盒（微量法）
KTB1030	CheKine™ 超氧化物歧化酶（SOD）活性检测试剂盒（微量法）
KTB1040	CheKine™ 过氧化氢酶（CAT）活性检测试剂盒（微量法）

免责声明

本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。