



半胱氨酰亚砷裂解酶活性检测试剂盒

CSL Assay Kit

微量法

产品编号: AK391M

产品规格: 100T/48S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
ES391	100mL×1 瓶	4℃保存;
AK391-A	粉剂×1 瓶	4℃避光保存, 临用前加入 2mL 水溶解, 剩余试剂分装后-20℃保存;
AK391-B	粉剂×1 瓶	-20℃避光保存, 临用前加入 10mL 水溶解, 剩余试剂分装后-20℃保存;
AK391-C	15mL×1 瓶	4℃保存;
AK391-D	6mL×1 瓶	4℃避光保存;
AK391-E	30mL×1 瓶	4℃保存;
AK-391 标准品	粉剂×1 支	临用前加入 1.4mL 蒸馏水,即 2μmol/mL, -20℃保存;

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

意义: 半胱氨酰亚砷裂解酶 (Cysteinyl sulfoxide lyase, CSL) 广泛存在于百合科葱属 (如大蒜和洋葱), 十字花科芸薹属 (如卷心菜, 菜花, 西兰花), 以及豆科中的合欢属中, 并通常被称为蒜氨酸酶 (Alliinase)。香菇酸在 γ -谷氨酰转肽酶和半胱氨酰亚砷裂解酶的作用下转化成香菇精, 以及产生丙酮酸、乙醛、甲醛和 NH_3 。CSL 是内源性甲醛生成的关键酶之一, 测定 CSL 活性对于研究食品安全具有重要意义。

原理: CSL 催化 S-甲基-L-半胱氨酰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 510nm 下有特征吸收峰。

自备用品:

酶标仪、96 孔板、天平、研钵、离心机、恒温水浴锅、蒸馏水。

样本处理:

- 按照组织质量 (g) : ES391 体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL ES391), 进行冰浴匀浆, 4℃浸提 40min。12000g 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
- 血清 (浆) 样品: 直接检测。

测定步骤:

- 分光光度计或酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 660nm。
- 标准液的稀释: 将 2μmol/mL 的标准溶液用蒸馏水等比稀释至 2、1.75、1.5、1.25、1、0.75、0.5nmol/mL 标准溶液待测。
- 酶促反应 (在 EP 管中加入下列试剂)

试剂名称	对照管 (μL)	测定管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
样品	50	50		
标准溶液			50	
AK391-A		25	25	25

蒸馏水	25			25
AK391-B	25	25	25	25
充分混匀，37℃反应 20min				
AK391-C	100	100	100	100
AK391-D	50	50	50	50
充分混匀，室温反应 5min				
AK391-E	250	250	250	250
充分混匀，静置 5min，于 1mL 玻璃比色皿测定 510nm 处吸光值，分别记为 A 对照管、A 测定管、A 标准管和 A 空白管， $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。每个测定管设一个对照管。				

CSL 酶活性计算：

1. 标准曲线的绘制

以标准溶液浓度为 x 轴（x，nmol/mL），标准溶液对应的 $\Delta A_{\text{标准}}$ 为 y 轴（y， $\Delta A_{\text{标准}}$ ），建立标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入方程得到 x（nmol/mL）。

2. 酶活计算

（1）按蛋白含量计算

$$\text{C-S lyase 活性 (U/mg prot)} = x \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = x \div \text{Cpr} \times 0.05$$

（2）按照样本质量计算

$$\text{C-S lyase 活性 (U/g 鲜重)} = x \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = x \div W \times 0.05$$

注：V 样，加入样本上清体积，0.05mL；V 样总：加入提取液体积，1mL；Cpr：蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；T，反应时间，20min。

注意事项：

若测定结果中吸光值超过 2 请将样本稀释后进行测定，并在计算公式中乘以稀释倍数。香菇类样本活性较大，可能需要稀释 80-100 倍。

※ 蛋白定量检测建议使用本公司：BCA Protein Assay Kit ([C05-02001](#))