



半胱氨酰亚砷裂解酶活性检测试剂盒

CSL Assay Kit

可见分光光度法

产品编号: AK391V

产品规格: 50T/24S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
ES391	25 mL×1 瓶	4℃ 保存
AK391-A	粉剂×1 瓶	4℃ 避光保存, 临用前加入 4mL 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 4mL 水溶解, 剩余试剂分装后-20℃ 保存
AK391-C	15mL×1 瓶	4℃ 保存
AK391-D	8mL×1 瓶	4℃ 避光保存
AK391-E	35mL×1 瓶	4℃ 保存
AK391-标准品	粉剂×1 支	4℃ 保存, 临用前加入 1.4mL 蒸馏水, 即 2μmol/mL

※ 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 (CysteinyI 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), 以及豆科中的合金欢属中, 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酸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 510nm 下有特征吸收峰。

自备用品:

分光光度计、1mL 玻璃比色皿、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。

测定步骤:

1. 分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 510nm, 蒸馏水调零。
2. 标准液的稀释: 将 2μmol/mL 的标准溶液用蒸馏水稀释至 2、1.75、1.5、1.25、1、0.75、0.5nmol/mL 标准溶液待测。
3. 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	100	100		
标准溶液			100	
AK391-A		50	50	50
蒸馏水	50			100
AK391-B	50	50	50	50
充分混匀, 37℃ 反应 20min				

AK391-C	200	200	200	200
AK391-D	100	100	100	100
充分混匀，室温反应 5min				
AK391-E	500	500	500	500
充分混匀，静置 5min，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， △A 测定=A 测定-A 对照，△A 标准=A 标准-空白。 注：每个测定管设一个对照管，标准曲线和空白管只需测 1-2 次。				

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 △A 标准为 y 轴（y，△A 标准），建立标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 △A 测定带入方程得到 x（nmol/mL）。

2. 酶活计算

（1）按蛋白含量计算

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

（2）按样本质量计算

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

注：V 样，加入样本上清体积，0.1mL；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：

若测定结果不在标曲范围之内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](#))