

# 使用说明书

Instruction Manual

## 半胱氨酰亚砷裂解酶活性检测试剂盒（微量法）

### CSL Assay Kit (Microanalysis)

#### 产品描述

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 $\gamma$ -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 $\text{NH}_3$ 。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。

#### 检测原理

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。

#### 产品组成及储存条件

100T/48S规格的产品组成如下：

| 组成               | 规格       | 储存条件                                         |
|------------------|----------|----------------------------------------------|
| CB0059M-ES       | 100mL×1瓶 | 4℃保存。                                        |
| CB0059M-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。            |
| CB0059M-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。         |
| CB0059M-C        | 15mL×1瓶  | 4℃保存。                                        |
| CB0059M-D        | 6mL×1瓶   | 4℃避光保存。                                      |
| CB0059M-E        | 30mL×1瓶  | 4℃保存。                                        |
| CB0059M-Standard | 粉剂×1支    | 临用前加入1.4mL蒸馏水，即2 $\mu\text{mol/mL}$ ，-20℃保存。 |

注：正式测定前务必取2-3个预期差异较大的样本做预测定。

#### 操作说明

##### 一、自备用品：

酶标仪、96孔板、天平、研钵、微量玻璃比色皿、离心机、恒温水浴锅、蒸馏水。

##### 二、样本处理：

- 按照组织质量（g）：提取液CB0059M-ES体积（mL）为1：5~10的比例（建议称取约0.1g组织，加入1mL CB0059M-ES），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。

##### 三、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2 $\mu\text{mol/mL}$ 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       |          |
| CB0059M-A                                                                                                                                                                                            |          | 25       | 25       | 25       |
| 蒸馏水                                                                                                                                                                                                  | 25       |          |          | 25       |
| CB0059M-B                                                                                                                                                                                            | 25       | 25       | 25       | 25       |
| 充分混匀，37℃反应 20min。                                                                                                                                                                                    |          |          |          |          |
| CB0059M-C                                                                                                                                                                                            | 100      | 100      | 100      | 100      |
| CB0059M-D                                                                                                                                                                                            | 50       | 50       | 50       | 50       |
| 充分混匀，室温反应 5min。                                                                                                                                                                                      |          |          |          |          |
| CB0059M-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。 |          |          |          |          |

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

##### 2. 酶活计算：

###### (1) 按蛋白含量计算：

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

###### (2) 按照样本质量计算：

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

**注：** V 样，加入样本上清体积，0.05mL；V 样总：加入提取液 CB0059M-ES 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

1. 蛋白定量测定，建议使用 TargetMol 生产的 BCA Protein Quantification Kit (C0050)。
2. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

