

使用说明书

Instruction Manual

半胱氨酰亚砷裂解酶活性检测试剂盒（可见分光光度法）

CSL Assay Kit (Visible Spectrophotometry)

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 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。

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

50T/24S 规格的产品组成如下：

组成	规格	储存条件
CB0059V-ES	60mL×1 瓶	4℃保存。
CB0059V-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。
CB0059V-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。
CB0059V-C	15mL×1 瓶	4℃保存。
CB0059V-D	6mL×1 瓶	4℃避光保存。
CB0059V-E	30mL×1 瓶	4℃保存。
CB0059V-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：

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。

二、样本处理：

- 按照组织质量（g）：提取液 CB0059V-ES 体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL CB0059V-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	100	100		
标准溶液			100	
CB0059V-A		50	50	
蒸馏水	50			150
CB0059V-B	50	50	50	50
充分混匀, 37°C反应 20min。				
CB0059V-C	200	200	200	200
CB0059V-D	100	100	100	200
充分混匀, 室温反应 5min。				
CB0059V-E	500	500	500	500
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 $\Delta A_{\text{标准}}$ 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:

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

(2) 按照样本质量计算:

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 CB0059V-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。

