

柠檬酸合酶（CS）活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AMHF9-C24	柠檬酸合酶（CS）活性检测试剂盒	24T	常量法
AMHF9-C48		48T	

一、测定意义：

柠檬酸合酶（CS）作为 TCA 循环的关键限速酶，其活性变化直接反映心肌、肝等高能需求组织的线粒体功能，与心肌缺血、肝衰竭等代谢性疾病的病理进程密切相关，可作为线粒体损伤与能量代谢紊乱的核心生物标志物。

二、测定原理：

柠檬酸合酶（CS）催化乙酰 CoA 和草酰乙酸产生柠檬酰辅酶 A，进一步水解产生柠檬酸；该反应促使 DTNB 转变成黄色的 TNB，在 412nm 处有特征吸光值。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(24T)	试剂装量(48T)	保存条件
提取液	液体 30mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 6mL×1 瓶	液体 12mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 0.06mL×1 瓶	液体 0.12mL×1 瓶	-20℃保存
试剂二的配制：用时每瓶试剂用蒸馏水 100 倍稀释，-20℃保存，避免反复冻融。			
试剂三	液体 0.06mL×1 瓶	液体 0.12mL×1 瓶	-20℃保存
试剂三的配制：用时每瓶试剂用蒸馏水 100 倍稀释，-20℃保存，避免反复冻融。			
试剂四	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×2 瓶	-20℃保存
试剂四的配制：用时每瓶粉剂加入蒸馏水 6mL，混匀充分溶解，-20℃保存 1 周，避免反复冻融。			

四、操作步骤：

样本前处理

1、组织：按照组织质量（g）:提取液(mL)为1:10 的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆。5000 rpm，4℃离心 10 min，取上清置冰上待测。

2、细菌、细胞：按照细胞数量 10⁴ 个：提取液体积（mL）500~1000:1 的比例（建议 500 万细胞加入 1 mL 提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率 300w，超声 3s，间隔 7s，总时间 3 min），5000 rpm，4℃离心 10min，取上清置冰上待测。

测定步骤

- 分光光度计预热30min以上，调节波长至412nm，蒸馏水调零；
- 测定前将试剂恢复至常温；
- 操作表（在离心管中加入以下试剂）：

试剂名称	测定管	空管
样品（μL）	200	-
双蒸水（μL）	-	200
试剂一（μL）	200	200
试剂二（μL）	200	200
试剂三（μL）	200	200
试剂四（μL）	200	200
混合均匀，记录 412nm 处 20s 时吸光值 A1 和 5min20s 时的吸光值 A2，计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A1_{\text{测定}} - A2_{\text{测定}}$ 。 $\Delta A_{\text{空白}} = A1_{\text{空白}} - A2_{\text{空白}}$ ； $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。（空白管只做 1-2 管）		

五、柠檬酸合酶（CS）活性计算：

1、按样本鲜重计算：

单位定义：每克组织每分钟生成 1nmol TNB 为一个酶活力单位。

计算公式：CS（U/min/g）= $[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div$

$$V_{\text{样总}} \times W) \div T = \Delta A \times 74 \div W$$

2、按样本蛋白浓度计算：

单位定义：每毫克蛋白每分钟生成 1nmol TNB 为一个酶活力单位。

计算公式：
$$CS \text{ (U/min/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = \Delta A \times 74 \div C_{\text{pr}}$$

3、按细菌或细胞数量计算：

单位定义：每 1 万个细菌或细胞每分钟生成 1nmol TNB 为一个酶活力单位。

计算公式：
$$CS \text{ (U/10}^4 \text{ cell)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times 500) \div T = \Delta A \times 0.147$$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积， 1×10^{-3} L； ϵ ：TNB 消光系数， 13.6×10^3 L/mol/cm； d ：比色皿光径，1cm； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.2mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL； T ：反应时间，5min； C_{pr} ：样本蛋白质浓度，mg/mL； 10^9 ：单位换算系数， $1\text{mol}=10^9\text{nmol}$ ； W ：样本质量，g；500：细菌或细胞总数，500 万。

六、 注意事项：

实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期：2025 年 4 月 7 日

修改日期：2025 年 4 月 7 日

