

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
PYHB9-C24	柠檬酸合酶（CS）活性检测试剂盒	24T	常量法
PYHB9-C48		48T	

一、测定意义：

柠檬酸合酶（CS）广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞的线粒体基质中，是三羧酸循环第一个限速酶，是三羧酸循环主要调控点之一。

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，避免反复冻融。			

四、操作步骤：

样本前处理

取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL

提取液）处理样品，室温研磨至匀浆，4℃ 10000 g 离心 10 min，取上清即为粗酶液，置于冰上待测。

测定步骤

- 1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 412nm，蒸馏水调零；
- 2、测定前将工作液平衡至常温；
- 3、样本测定（在离心管中依次加入下列试剂）：

试剂名称	测定管	空白管
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）活性测定：

- 1、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： $CS (U/min/mg \text{ prot}) = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = \Delta A \times 735.29 \div C_{\text{pr}}$

- 2、按样本质量计算

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： $CS (U/min/g \text{ 鲜重}) = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = \Delta A \times 735.29 \div W$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积， $1 \times 10^{-3} L$ ； ϵ ：TNB 消光系数， $13.6 \times 10^3 L/mol/cm$ ；

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; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL;

10^9 : 单位换算系数, $1\text{mol}=10^9\mu\text{mol}$; W: 样本质量, g。

六、 注意事项:

1、样本测试前请选取 2 个预期差异最大的样本, 稀释成不同浓度进行预试, 以选取最佳取样浓度;

2、为保证结果准确且避免试剂损失, 测定前请仔细阅读说明书(以实际收到说明书内容为准), 确认试剂储存和准备是否充分, 操作步骤是否清楚, 且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定, 过程中问题请您及时与工作人员联系。

【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