

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-M48	柠檬酸合酶（CS）活性检测试剂盒	48T	微量法
PYHB9-M96		96T	

一、测定意义：

柠檬酸合酶作为三羧酸循环的关键限速酶，其活性测定可直接反映植物将糖酵解产生的乙酰辅酶 A 导入 TCA 循环进行碳源氧化分解、释放能量及合成有机酸等中间代谢物的能力，是评估植物碳代谢核心通路运转效率的重要指标。同时，该酶活性变化与植物生长发育及逆境响应密切相关，可作为解析植物碳代谢调控机制、评估其生长潜力及逆境适应性的关键生化依据。

二、测定原理：

柠檬酸合酶（CS）催化底物乙酰辅酶 A 与草酰乙酸缩合生成柠檬酰辅酶 A，后者进一步水解 DTNB 发生巯基特异性反应，生成具有特征吸收的黄色产物 TNB。通过检测反应体系中 412 nm 处吸光值的动态变化速率，可依据 TNB 的生成量间接推算 CS 催化底物转化的活性。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(48T)	试剂装量(96T)	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 110mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂一	液体 3mL×1 瓶	液体 6mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂二	液体 0.03mL×1 瓶	液体 0.06mL×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 0.03mL×1 瓶	液体 0.06mL×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 3mL，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、酶标仪预热 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 96 孔板中依次加入下列试剂）：

试剂名称	测定管	空白管
样品（μL）	40	-
双蒸水（μL）	-	40
试剂一（μL）	40	40
试剂二（μL）	40	40
试剂三（μL）	40	40
试剂四（μL）	40	40
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： $CS (U/min/mg \text{ prot}) = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times Cpr)$
 $\div T = 1225.48 \times \Delta A \div Cpr$

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： $CS (U/min/g) = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W)$
 $\div T = \Delta A \times 1225.48 \div W$

$V_{\text{反应}}$: 反应体系总体积, $2 \times 10^{-4} L$; ϵ : TNB 消光系数, $13.6 \times 10^3 L/mol/cm$;

d : 96 孔板光径, $0.6cm$; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, $0.04mL$; $V_{\text{样总}}$: 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, $1mol=10^9\mu mol$; W : 样本质量, g 。

六、 注意事项：

- 1、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；
- 2、全程维持低温（4℃）操作，植物样本需去除叶绿体等高浓度有机酸的细胞器，避免非特异性反应。

【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