

Citrate Synthase Activity Assay Kit

柠檬酸合酶（CS）试剂盒说明书

货号:BN72402| 方法: 可见分光法 | 规格: 24 样

一、产品简介:

柠檬酸合酶（CS，EC 2.3.3.1）几乎存在于所有的生物体中，是细胞内多种代谢途径的关键限速酶及代谢变化的标志酶，是发生于线粒体中 TCA 循环入口的第一个限速酶，也与种子萌发和抗逆等有关。

柠檬酸合酶（CS）催化乙酰 CoA 和草酰乙酸产生柠檬酰辅酶 A，进一步水解成柠檬酸和辅酶 A；最后与显色剂作用生成黄色物质，该有色物质在 412nm 处有特征吸收峰，即可得出 CS 酶活性大小。

二、试剂盒组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 60mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉剂 mg×1 支	4℃保存	临用前甩几下使粉剂落入底部，再加入 0.6mL 蒸馏水溶解备用。
试剂二	粉剂 mg×1 支	4℃保存	临用前甩几下使粉剂落入底部，再加入 0.7mL 蒸馏水溶解备用。
试剂三	液体 32mL×1 瓶	4℃保存	
试剂四	液体 5mL×1 瓶	4℃保存	若凝固，可在 25℃水浴温育片刻至全部融解后使用。
标准品	粉剂 mg×1 支	4℃保存	若重新做标曲，则用到该试剂。

三、所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）、低温离心机、水浴锅、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水

四、柠檬酸合酶（CS）活性测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本制备:

① 组织样本:

称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液，进行冰浴匀浆。12000rpm 4℃离心 15min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例提取

② 细菌/细胞样本:

先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取约 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液，超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；12000rpm 4℃离心 15min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照细菌/细胞数量（10⁴）：提取液（mL）为 500~1000：1 的比例进行提取。

③ 液体样本: 澄清的液体直接检测；若浑浊则离心后取上清检测。

2、上机检测:

① 分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 412nm，蒸馏水调零。

② 所有试剂解冻至室温（25℃）。试剂一和二和三和四也可按照 20:20:600:80 比例配成混

合液（用多少配多少，现配现用），一枪加 720μL。

③ 在 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中依次加入：

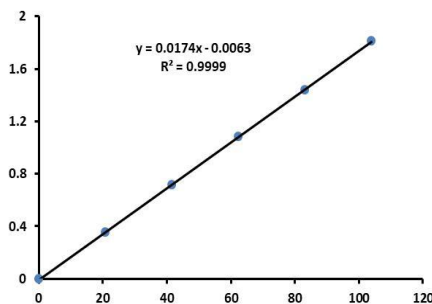
试剂名称（μL）	测定管	对照管
样本	80	80
试剂一	20	
试剂二	20	
试剂三	600	640
试剂四	80	80
混匀，30℃条件下反应 15min，立即于 412nm 处读取吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ （每个样本做一个自身对照）。		

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；

针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、标准曲线方程： $y = 0.0174x - 0.0063$ ，x 是标准品摩尔质量：nmol，y 是 ΔA 。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

2、按样本蛋白浓度计算：

酶活定义：每毫克组织蛋白每分钟催化产生 1 nmol 辅酶 A 定义为一个酶活力单位。

$$CS(\text{nmol/min/mg prot}) = [(\Delta A + 0.0063) \div 0.0174] \div (V1 \times Cpr) \div T = 47.9(\Delta A + 0.0063) \div Cpr$$

3、按样本鲜重计算：

酶活定义：每克组织每分钟催化产生 1nmol 辅酶 A 定义为一个酶活力单位。

$$CS(\text{nmol/min/g 鲜重}) = [(\Delta A + 0.0063) \div 0.0174] \div (W \times V1 \div V) \div T = 47.9(\Delta A + 0.0063) \div W$$

4、按细菌或细胞密度计算：

酶活定义：每 1 万个细菌或细胞每分钟催化产生 1 nmol 辅酶 A 定义为一个酶活力单位。

$$CS(\text{nmol/min}/10^4 \text{ cell}) = [(\Delta A + 0.0063) \div 0.0174] \div (500 \times V1 \div V) \div T = 0.1 \times (\Delta A + 0.0063)$$

5、按液体体积计算：

酶活定义：每毫升液体每分钟催化产生 1 nmol 辅酶 A 定义为一个酶活力单位。

$$CS(\text{nmol/min/mL}) = [(\Delta A + 0.0063) \div 0.0174] \div V1 \div T = 47.9(\Delta A + 0.0063)$$

V1---加入样本体积，0.08mL； V---加入提取液体积，1mL； T---反应时间，15 min；

W---样本质量，g； 500---细胞或细菌总数，万； CoA---分子量，767.5；

Cpr---样本蛋白质浓度，mg/mL； 建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。