

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号: E-BC-K811-M

产品规格: 48T(46 samples)/96T(94 samples)

检测仪器: 酶标仪(330 – 350 nm)

Elabscience®胱硫醚合成酶(CBS)比色法检测试剂盒

Cystathionine- β -synthase (CBS) Activity

Colorimetric Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100

邮箱：biochemical@elabscience.cn

网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测动物组织和细胞中胱硫醚合成酶(CBS)的酶活。

检测原理

胱硫醚合成酶(Cystathionine- β -synthase, CBS)可参与气体信号分子——硫化氢的产生,在细胞代谢过程中起重要作用。本试剂盒的作用原理是 CBS 与酶催化底物,通过酶联反应,可以将 NADH 转化为 NAD,通过检测单位时间内 NADH 的变化,可计算样品中的 CBS 酶活大小。

本试剂盒检测组织或细胞样本时,需测定总蛋白浓度,推荐使用本公司 BCA 试剂盒(货号 E-BC-K318-M)进行测定。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	12 mL×1 瓶	24 mL×1 瓶	-20℃避光 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	底物 (Substrate)	粉剂×1 支	粉剂×2 支	-20℃避光 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	酶试剂 (Enzyme Reagent)	0.075 mL×1 支	0.15 mL×1 支	-20℃避光 保存 6 个月
	96 孔紫外酶标板	1 板		
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

说明:试剂严格按上表中的保存条件保存,不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂,使用前请先离心,以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器:酶标仪(检测波长范围 330–350 nm,最佳检测波长为 340 nm)

试剂:生理盐水 (0.9% NaCl)

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至25℃。

② 试剂二工作液的配制：

取一支试剂二加入1 mL试剂一，充分溶解，-20℃可保存7天。

③ 底物工作液的配制：

按试剂一：试剂二工作液体积比=9：1 混匀，得到底物工作液。例如，取3600 μL 试剂一，加入 400 μL 试剂二工作液，混匀，即得到底物工作液。按需配制，需避光保存，2-8℃可保存1天。

④ 显色工作液配制：

按底物工作液：试剂三体积比=1000：6 混匀，得到显色工作液。例如，取2 mL 底物工作液，加入 12 μL 试剂三，混匀，即得到显色剂工作液，此方法配制的显色剂工作液可供约11个孔添加。按需配制，需避光保存，30 min内使用。

样本准备

① 样本处理

组织样本：按组织样本质量(g)：生理盐水（0.9% NaCl）体积(mL)=1:9的比例进行匀浆，例如，0.1 g小鼠肺组织，加入0.9 mL生理盐水（0.9% NaCl）匀浆。4℃，10000 ×g离心10 min后取上清待测，需留取部分上清进行蛋白浓度测定。

细胞样本：取 1×10^6 个细胞离心后弃上清，加入 200 μL 生理盐水（0.9% NaCl）匀浆处理，4℃，10000 ×g 离心 10 min 后取上清待测，需留取部分上清液进行蛋白浓度测定。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.005-20.0 U/L，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
10%小鼠肾组织	不稀释	10%小鼠肝组织	不稀释
10%小鼠脑组织	不稀释	10%小鼠肺组织	1-5 倍
10%小鼠心组织	不稀释	293T 细胞	不稀释

注：稀释液为生理盐水（0.9% NaCl）。

实验关键点

显色工作液的使用和配制过程中注意避光，30 min 内使用。

操作步骤

- ① 测定孔：取 20 μL 待测样本加入相应的酶标孔中；
对照孔：取 20 μL 生理盐水加入相应的酶标孔中。
- ② 向各孔中加入 180 μL 显色工作液。
- ③ 酶标仪 340 nm 波长处检测各孔的 OD 值 A_1 ，37 $^{\circ}\text{C}$ 下避光孵育 10 min，检测各孔的 OD 值 A_2 。

操作表

	测定孔	对照孔
待测样本(μL)	20	--
生理盐水(μL)		20
显色工作液(μL)	180	180
酶标仪 340 nm 波长处检测各孔的 OD 值 A_1 ，37 $^{\circ}\text{C}$ 下避光孵育 10 min，检测各孔的 OD 值 A_2 。		

本试剂盒检测组织或细胞样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用本公司 BCA 试剂盒(货号 E-BC-K318-M)进行测定。

结果计算

动物组织或细胞样本中 CBS 活力计算公式:

定义: 37℃ 条件下, 每克样本蛋白每分钟催化消耗 1 μmol 的 NADH 所需要的酶量为一个酶活单位。

$$\text{胱硫醚合成酶(CBS)活力 (U/gprot)} = \frac{\Delta A_{\text{测}} - \Delta A_{\text{对}}}{6220 \times 0.6} \times 0.2 \div 0.02 \div t \div C_{\text{pr}} \times f \times 10^6$$

注解:

$\Delta A_{\text{测}}$: 测定孔绝对 OD 值, $\Delta A_{\text{测}} = A_1 - A_2$

$\Delta A_{\text{对}}$: 对照孔绝对 OD 值, $\Delta A_{\text{对}} = A_1 - A_2$

0.2: 反应总体积, mL

0.02: 样本体积, mL

6220: NADH 摩尔消光系数, L/mol/cm

0.6: 光径, cm

t: 反应时间, 10 min

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

C_{pr} : 待测样本的蛋白浓度, gprot/L

10^6 : 1 mol = 10^6 μmol

附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	0.005-20.0 U/L	批间差	5.2-10.1%
灵敏度	0.005 U/L	批内差	2.5-4.9%
稀释回收率	92-105%		

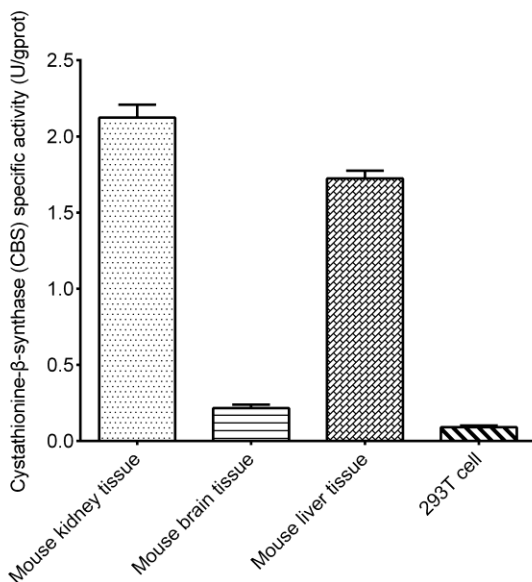
附录2 实例分析

例如检测小鼠肾组织(数据仅供参考):

取10%小鼠肾组织匀浆上清液20 μL , 按操作表操作, 结果如下: 测定孔 A_1 值为0.891, A_2 值为0.714, $\Delta A_{\text{测}} = 0.891 - 0.714 = 0.177$; 对照孔 A_1 值为0.861, 对照孔 A_2 值为0.847, $\Delta A_{\text{对}} = 0.861 - 0.847 = 0.014$, 10%小鼠肾组织匀浆蛋白浓度为19.54 gprot/L, 计算结果为:

$$\begin{aligned} \text{CBS 活力(U/gprot)} &= (0.177-0.014) \div 6220 \div 0.6 \times 0.2 \div 10 \div 0.02 \times 10^6 \div 19.54 \\ &= 2.24 \text{ U/gprot} \end{aligned}$$

按说明书操作, 测定小鼠肾组织(10%组织匀浆蛋白浓度19.45 gprot/L, 加样量20 μL)、测定小鼠脑组织(10%组织匀浆蛋白浓度14.23 gprot/L, 加样量20 μL)、小鼠肝组织(10%组织匀浆蛋白浓度19.45 gprot/L, 加样量20 μL)、293T细胞(1×10^6 个细胞匀浆蛋白浓度0.31 gprot/L, 加样量20 μL)中的CBS活性(如下图):



声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。

