

## 乙酰乳酸合成酶（ALS）活性检测试剂盒（微量法）

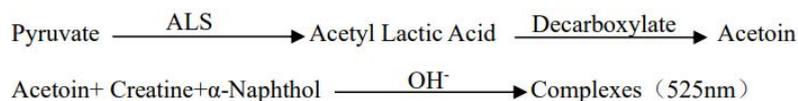
产品货号：BA2262

产品规格：50T/24S；100T/48S

### 产品说明：

乙酰乳酸合成酶(Acetolactate Synthase, ALS, EC 4.1.3.18), 又称乙酰羟乙酸合成酶(Acetoxyacid synthase, AHAS)。ALS存在于植物生长的过程中, 是诱导支链氨基酸(Ile、Leu、Val)生物合成过程中第一阶段的关键酶。

ALS催化丙酮酸生成乙酰乳酸, 乙酰乳酸在一定条件下脱羧生成乙偶姻, 乙偶姻在碱性环境下与肌酸和 $\alpha$ -萘酚反应生成红色物质, 在525nm下有最大吸光值。



注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。

### 产品组成：

试剂名称	50T规格	100T规格	保存条件
试剂一 A	粉剂×1支	粉剂×1支	-20℃
试剂一 B	粉剂×1支	粉剂×1支	-20℃
试剂一 C	液体120mL×1瓶	液体120mL×1瓶	2-8℃
试剂二	液体15mL×1瓶	液体30mL×1瓶	2-8℃
试剂三 A	粉剂×1支	粉剂×1支	-20℃
试剂三 B	粉剂×1支	粉剂×1支	-20℃
试剂三 C	液体60mL×1瓶	液体60mL×1瓶	2-8℃
试剂四	液体1.6mL×1瓶	液体3mL×1瓶	2-8℃
试剂五	液体8mL×1瓶	液体12mL×1瓶	2-8℃
试剂六	粉剂×1瓶	粉剂×1瓶	2-8℃
试剂六稀释液	液体8mL×1瓶	液体15mL×1瓶	2-8℃
标准品	液体1mL×1瓶	液体1mL×1瓶	2-8℃

### 溶液的配制：

1. 试剂一：临用前将试剂一A, 试剂一B溶于试剂一C中, 充分溶解。未用完的试剂分装保存, -20℃保存可以保存4周, 避免反复冻融。
2. 试剂三：临用前将试剂三A, 试剂三B溶于试剂三C中, 充分溶解。未用完的试剂分装保存, -20℃保存可以保存4周, 避免反复冻融。
3. 试剂六：临用前加入1mL无水乙醇溶解。-20℃可保存4周。
4. 试剂六工作液：临用前根据样本量按试剂六：试剂六稀释液=0.1mL：0.7mL（共0.8mL, 8T）的比例配制, 现用现配。当天用完。
5. 标准品：100  $\mu\text{mol/mL}$  乙偶姻标准液（即 $10^5\text{nmol/mL}$ 乙偶姻标准液）。
6. 100nmol/mL标准溶液的配制：取 $10^5\text{nmol/mL}$  乙偶姻标准液50  $\mu\text{L}$ 和950  $\mu\text{L}$ 蒸馏水混合, 即5000nmol/mL标准溶液；再取20  $\mu\text{L}$  5000nmol/mL标准溶液和980  $\mu\text{L}$ 蒸馏水混合, 即100nmol/mL标准溶液。

### 自备材料：

可见分光光度计/酶标仪、低温离心机、水浴锅/恒温培养箱、分析天平、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵/匀浆器、蒸馏水、冰, 无水乙醇 (>98%, AR) 和硫酸铵 (>98%, AR)。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司  
Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

### 测定步骤:

#### 一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

- 按照组织质量（g）：试剂一体积（mL）为1：2~4的比例（建议称取约0.5g到1g组织，加入试剂一定容至2mL），进行冰浴匀浆。15000g 4℃离心20min。取1mL上清，转移至新的2mL EP管中。
- 在取出的上清中加入约0.5g硫酸铵，充分溶解后4℃静置2h。然后15000g 4℃离心20min，弃掉上清。沉淀中加入0.5mL试剂二，充分溶解冰上待用（若按蛋白浓度计算，则用此粗酶液自行测定蛋白浓度）。

#### 二、测定步骤

- 可见分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至525nm，可见分光光度计用蒸馏水调零。
- 在1.5mLEP管中按下表步骤加样：

试剂名称（ $\mu\text{L}$ ）	测定管	对照管	标准管	标准空白管
样本	200	200	-	-
试剂三	200	200	-	-
试剂四	-	20	-	-
37℃避光反应1小时				
试剂四	20	-	-	-
充分混匀，60℃反应15min，取出后8000g离心5min，取上清于新的EP管中				
上清液	200	200	-	-
标准品	-	-	200	-
蒸馏水	-	-	-	200
试剂五	100	100	100	100
试剂六工作液	100	100	100	100
充分混匀，60℃反应15min，然后取200 $\mu\text{L}$ 于微量玻璃比色皿/96孔板中，测定525nm处吸光值，记作A测定，A对照，A标准，A标准空白。 $\Delta\text{A测定}=\text{A测定}-\text{A对照}$ ， $\Delta\text{A标准}=\text{A标准}-\text{A标准空白}$ 。（标准管和标准空白管只需做1-2次）				

#### 三、乙酰乳酸合成酶活性计算

##### 1. 按样本蛋白浓度计算：

单位的定义：37℃每mg组织蛋白每小时催化产生1nmol乙酰乳酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{ALS活性 (U/mg prot)} = \text{C标准} \times \Delta\text{A测定} \div \Delta\text{A标准} \times \text{V酶促} \div (\text{Cpr} \times \text{V样}) \div \text{T} \times \text{F} = 210 \times \Delta\text{A测定} \div \Delta\text{A标准} \div \text{Cpr} \times \text{F}$$

##### 2. 按样本质量计算：

单位的定义：37℃每g组织每小时催化产生1nmol乙酰乳酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{ALS活性 (U/g质量)} = \text{C标准} \times \Delta\text{A测定} \div \Delta\text{A标准} \times \text{V酶促} \div (\text{W} \div 2 \div \text{V提取} \times \text{V样}) \div \text{T} \times \text{F} = 210 \times \Delta\text{A测定} \div \Delta\text{A标准} \div \text{W} \times \text{F}$$

C标准：标准溶液浓度，100nmol/mL；V酶促：37℃反应体系体积，0.42mL；V提取：加入的试剂三体积，0.5mL；V样：加入的样本体积，0.2mL；T：37℃反应时间，1h；Cpr：蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；2：2mL样本匀浆取1mL；F：样本稀释倍数。

#### 注意事项：

- 如果 $\Delta\text{A}$ 测定大于1，可以对样品进行稀释或者缩短37℃反应时间；测定吸光值或 $\Delta\text{A}$ 测定小于0.01，可以加大样本量或者延长37℃反应时间。最终计算时同步修改计算公式。



扫一扫 加微信

**郑州乐业生物科技有限公司**

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com