



苹果酸合酶 (MS) 活性检测试剂盒

Malate Synthase (MS) Activity Assay Kit

Acetyl CoA+Glyoxylic Acid



Malate Synthase (MS)

Malic Acid+Coenzyme A



DTNB

**2-Nitro-5-Mercaptobenzoic Acid
(TNB)**

北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



苹果酸合酶（MS）活性检测试剂盒

Malate Synthase (MS) Activity Assay Kit

一、产品描述

苹果酸合酶（MS）主要存在于植物和微生物中，属于转移酶中酰基转移酶的一类，能够催化乙醛酸和乙酰辅酶 A 反应生成苹果酸，并在转移过程中将酰基转化为烷基，是乙醛酸循环中的关键限速酶之一，其活性测定对机体代谢过程、能量产生和代谢通路调控等研究具有重要意义。

苹果酸合酶可催化乙酰 CoA 和乙醛酸生成苹果酸，同时生成辅酶 A，辅酶 A 使无色的 DTNB 转变成黄色的 TNB，产物在 412 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征苹果酸合酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
提取液	液体 60 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂一	液体 15 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂二	液体 600 μL×1 支	4°C保存	-
试剂三	粉剂×1 支	-20°C保存	使用前加入 600 μL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C可保存 1 个月，避免反复冻融)
试剂四	液体 1.1 mL×1 支	4°C保存	-
试剂五	液体 6 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂六	液体 1.3 mL×1 支	4°C保存	-

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿（光径 10 mm）/96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1.粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1:（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，4°C 12000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞:离心收集细菌或细胞至离心管内,按照细菌或细胞数量(10^4 个):提取液体积(mL)为(500-1000):1的比例(建议500万细菌或细胞加入1 mL提取液)处理样品,冰浴超声破碎(功率200 W,超声3 s,间隔7 s,总时间5 min),4°C 12000 g离心10 min,取上清置于冰上待测。

③培养液等液体样本:直接检测或适当稀释后再进行测定。

2.测定步骤

①分光光度计或酶标仪预热30 min以上,调节波长至412 nm,蒸馏水调零。

②试验前将试剂一25°C预热15 min以上。

③在离心管中依次加入下列试剂:

试剂	测定组 (μ L)	对照组 (μ L)
试剂一	120	140
试剂二	10	-
试剂三	10	-
粗酶液	50	50
充分混匀, 25°C反应20 min		
试剂四	10	10
充分混匀		
4°C 12000 g离心5 min, 取上清液		
96孔板中依次加入下列试剂:		
上清液	140	140
试剂五	50	50
试剂六	10	10
充分混匀, 室温静置5 min		

吸光值测定:测定412 nm处吸光值,记为A测定和A对照;计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$;注:每个样本均需设一个对照组。

3.苹果酸合酶(MS)活性计算

3.1 使用96孔板测定的计算公式

①按组织蛋白浓度计算

单位定义:每mg组织蛋白每分钟生成1 nmol TNB定义为一个酶活力单位。

$$\text{MS (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{显色}} \times V_{\text{酶促}} \times D}{\varepsilon \times d_1 \times C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}} \times V_{\text{上清}} \times T} = \frac{42 \times \Delta A \times D}{C_{\text{pr}}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟生成 1 nmol TNB 定义为一个酶活力单位。

$$MS (U/g) = \frac{\Delta A \times V_{\text{显色}} \times V_{\text{酶促}} \times V_{\text{样总}} \times D}{\epsilon \times d_1 \times W \times V_{\text{样}} \times V_{\text{上清}} \times T} = \frac{42 \times \Delta A \times D}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每分钟生成 1 nmol TNB 定义为一个酶活力单位。

$$MS (U/10^4 \text{ cell}) = \frac{\Delta A \times V_{\text{显色}} \times V_{\text{酶促}} \times V_{\text{样总}} \times D}{\epsilon \times d_1 \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times V_{\text{上清}} \times T} = \frac{42 \times \Delta A \times D}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟生成 1 nmol TNB 定义为一个酶活力单位。

$$MS (U/mL) = \frac{\Delta A \times V_{\text{显色}} \times V_{\text{酶促}} \times V_{\text{样总}} \times D}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times V_{\text{上清}} \times T} = 42 \times \Delta A \times D$$

3.2 使用微量玻璃比色皿测定的计算公式

将上述计算公式中 96 孔板光径 ($d_1=0.5$) 改为微量玻璃比色皿光径 ($d_2=1.0$) 后进行计算即可。

注释： V 显色：显色反应体系总体积，0.2 mL；V 酶促：酶促反应总体积，0.2 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.05 mL；V 上清：显色反应中上清液体积，0.14 mL； ϵ ：TNB 摩尔消光系数， 13.6×10^{-3} mL/nmol/cm； d_1 ：96 孔板光径，1 cm； d_2 ：微量玻璃比色皿光径，1 cm；T：反应时间，20 min；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计；D：粗酶液稀释倍数。

四、注意事项

①测定过程中样本和所有试剂均须置于冰上放置，以免变性和失活；

②若 A 测定大于 1.2 或 ΔA 大于 1.0，建议将粗酶液适当稀释后再进行测定；若 ΔA 小于 0.02，建议适当延长酶促反应时间（25°C 反应时间）或增加样本量后再进行测定，计算时相应修改；

③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。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

