

Acetolactate Synthase Assay Kit

乙酰乳酸合成酶（ALS）活性测定试剂盒

货号：G0442W | 方法：微板法 | 规格：48 样

一、产品简介：

乙酰乳酸合成酶(ALS, EC 2.2.1.6) 是支链氨基酸生物合成途径中的一个关键酶，此生物合成过程只存在于植物和微生物体内，是绿色除草剂的重要作用靶标。

乙酰乳酸合成酶(ALS)可催化 2 分子的丙酮酸生成乙酰乳酸，该产物在硫酸作用下脱羧生成乙酰甲基甲醇，该产物与显色剂反应生成有色物质，该有色物质在 525nm 处有特征吸收峰，通过检测该有色物质的增加速率即可得出 ALS 酶活性大小。

反应方程式：2 pyruvate =2-acetolactate+CO₂。

二、试剂盒的组成和配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉体 mg×1 支	4℃保存	临用前甩几下使粉体落入底部，再加 1.2mL 蒸馏水混匀溶解，仍 4℃保存。
试剂二	液体 15mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	液体 2mL×1 支	4℃保存	
试剂四	液体 10mL×1 瓶	4℃保存	
试剂五	液体 10mL×1 瓶	4℃保存	
标准品	粉体×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：

酶标仪、96 孔板、低温离心机、水浴锅、可调式移液器、研钵、蒸馏水。

四、乙酰乳酸合成酶（ALS）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：取约 0.2g 组织（水分充足的样本可取 0.5g），加入 1mL 提取液，进行冰浴匀浆，4℃×12000rpm 离心 15min，取上清液待测。

【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 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；12000rpm 4℃离心 10min，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。

2、上机检测：

① 酶标仪预热 30 min，调节波长为 525nm。

② 所有试剂于 25℃水浴中预热 10 min。

③ 在 EP 管中依次加入下列试剂：

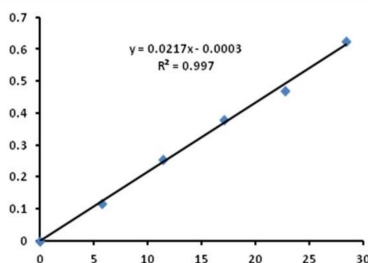
试剂名称（μL）	样本管	对照管
试剂一	20	

试剂二	130	150
样本	50	50
35℃条件下，暗反应 1h		
试剂三	20	20
60℃条件下水浴脱羧 15min		
试剂四	100	100
试剂五	100	100
60℃条件下水浴显色 15min, 12000rpm 离心 5min, 取 200μL 澄清液体至 96 孔板中, 于 525nm 处读值。 ΔA=A 测定-A 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：y = 0.0217x - 0.0003, x 是标准品乙酰甲基甲醇摩尔质量 (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、按照样本质量计算：

酶活定义：每克组织每小时催化底物产生 1nmol 乙酰甲基甲醇定义为一个酶活单位。

$$ALS \text{ (nmol/h/g 鲜重)} = [(\Delta A + 0.0003) \div 0.0217] \div (W \times V1 \div V) \div T \times D = 921.7 \times (\Delta A + 0.0003) \div W \times D$$

3、按照样本蛋白浓度计算：

酶活定义：每毫克蛋白每小时催化底物产生 1nmol 乙酰甲基甲醇定义为一个酶活单位。

$$ALS \text{ (nmol/h/mg prot)} = [(\Delta A + 0.0003) \div 0.0217] \div (Cpr \times V1) \div T \times D = 921.7 \times (\Delta A + 0.0003) \div Cpr \times D$$

4、按细菌数量计算：

酶活定义：每 10⁴ 个细胞每小时催化底物产生 1nmol 乙酰甲基甲醇定义为一个酶活单位。

$$ALS \text{ (nmol/h/10}^4 \text{ cell)} = [(\Delta A + 0.0003) \div 0.0217] \div (500 \times V1 \div V) \div T \times D = 1.84 \times (\Delta A + 0.0003) \times D$$

W---样品质量，g；

V---提取液体积，1 mL；

V1---上清液体积 (mL)，0.05mL；

T---反应时间，1h。

D---稀释倍数，未稀释即为 1；

500---细胞数量，万；

Cpr---上清液蛋白质浓度，mg/mL；建议使用本公司的 BCA 蛋白质含量测定试剂盒。