

## 海藻糖酶（THL）活性检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1163

产品规格：100管/48样

### 产品简介：

THL（EC 3.2.1.28）广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中。海藻糖酶主要功能在于生物体分解海藻糖生成葡萄糖而直接用于能量供应。

采用3,5-二硝基水杨酸法测定THL催化海藻糖产生的还原糖的含量。还原糖与3,5-二硝基水杨酸共热生成棕红色的氨基化合物，在一定范围内还原糖的量和反应液的颜色深度成正比，由此判断THL活性的高低。

**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。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

### 产品内容：

| 试剂名称 | 规格         | 保存条件 |
|------|------------|------|
| 提取液  | 液体100mL×1瓶 | 2-8℃ |
| 试剂一  | 液体10mL×1瓶  | 2-8℃ |
| 试剂二  | 粉剂×1瓶      | 2-8℃ |
| 试剂三  | 液体13mL×1瓶  | 2-8℃ |
| 试剂四  | 液体13mL×1瓶  | 室温   |
| 标准品  | 粉剂×1支      | 2-8℃ |

### 溶液的配制：

1. 试剂二：临用前加入2mL试剂一，充分溶解待用；
2. 标准品：含10mg无水葡萄糖（干燥失重<0.2%），临用前加入1mL蒸馏水溶解备用，4℃可保存1周，或者用饱和苯甲酸溶液溶解，可保存更长时间；
3. 标准品准备：将标准品用蒸馏水稀释至1、0.8、0.6、0.4、0.2mg/mL。

### 需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

### 操作步骤：

#### 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）

细菌或细胞的处理：收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照每500万细菌或细胞加入1mL提取液充分匀浆以破碎并裂解细胞（功率20%，超声3秒，间隔10秒，重复30次）；8000g，4℃离心10min，取上清，置冰上待测。

组织的处理：称取约0.1g组织加入1mL提取液，冰浴中匀浆。8000g，4℃下离心10min，取上清，置冰上待测。

血清（浆）的处理：吸取约0.1mL血清（浆），加入0.9mL提取液，冰浴中匀浆。8000g，4℃下离心10min，取上清，置冰上待测。

#### 二、测定操作

1. 分光光度计或酶标仪预热30min以上，调节波长至540nm，蒸馏水调零。
2. 样本测定（在1.5mL EP管中依次加入下列试剂）：



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

| 试剂名称 (μL)  | 对照管 | 测定管 | 标准管 | 空白管 |
|--|-----|-----|-----|-----|
| 样本   | 40  | 40  | -   | -   |
| 标准液  | -   | -   | 40  | -   |
| 蒸馏水  |     |     |     | 40  |
| 试剂一  | 70  | 70  | 70  | 70  |
| 试剂二  | -   | 20  | -   | -   |
| 37°C (哺乳动物) 或 25°C (其它物种) 水浴, 准确反应时间 10min   |     |     |     |     |
| 试剂三  | 95  | 95  | 95  | 95  |
| 试剂四  | 95  | 95  | 95  | 95  |
| 混匀, 100°C 煮沸 5min (盖紧, 以防止水分散失), 冷却后, 取 200 μL 至微量玻璃比色皿或 96 孔板中测定 540nm 处测定管吸光值。计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。每个测定管均需设立一个对照管。 |     |     |     |     |

### 三、THL 活力计算

#### 1. 标准曲线的建立

根据标准管浓度和吸光度 ( $A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ ) 建立标准曲线,  $x$  为吸光度,  $y$  为标准品浓度 (mg/mL)。再计算样本中产生的还原糖量, 即将  $\Delta A$  ( $A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ) 带入  $x$  计算出  $y$  值。

#### 2. 按照蛋白浓度计算

单位的定义: 每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟催化产生 1 μg 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{THL 活力 (U/mg prot)} = 1000 \times y \div T \div \text{Cpr} = 100 \times y \div \text{Cpr}$$

#### 3. 按样本质量计算

单位的定义: 每 g 组织在反应体系中每分钟催化产生 1 μg 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{THL 活力 (U/g 质量)} = 1000 \times y \div T \div (\text{W} \div \text{V样总}) = 100 \times y \div \text{W}$$

#### 4. 按细菌或细胞数量计算

单位的定义: 每 1 万个细菌或细胞在反应体系中每分钟催化产生 1 μg 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{THL 活力 (U/10}^4\text{cell)} = 1000 \times y \div T \div (500 \div \text{V样总}) = 0.2 \times y$$

#### 5. 按血清 (浆) 体积计算

单位的定义: 每 mL 血清 (浆) 在反应体系中每分钟催化产生 1 μg 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{THL 活力 (U/mL)} = 1000 \times y \div T \div (\text{V样} \div \text{V样总}) = 1000 \times y$$

1000: 单位换算系数, 1mg/mL=1000μg/mL; T: 反应时间, 10min; V样: 加入血清 (浆体积), 0.1mL; V样总: 样本总体积, 1mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; 500: 细菌或细胞总数, 500万。



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