

海藻糖合成酶（TS）活性检测试剂盒（可见分光光度法）

产品货号：BA1940

产品规格：50T/24S

产品简介：

海藻糖是功能性低聚糖，具有非还原性、保湿性、热酸稳定性、抗冻结性等特性，是细胞在不良环境条件下产生的一种重要的抗逆应激物之一，它对生物大分子和生物组织有着非特异性的保护作用。

海藻糖合成酶（Trehalose Synthase, TS）能催化麦芽糖生成海藻糖，是海藻糖生物合成的关键途径之一。本试剂盒使用糖化酶分解剩余麦芽糖为葡萄糖，通过葡萄糖氧化酶法测定葡萄糖含量，按照麦芽糖减少的量表示海藻糖合成酶的活性。

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。

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体30mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体7mL×1瓶	2-8℃
试剂二	粉剂×1瓶	2-8℃
试剂三	液体30mL×1瓶	2-8℃
试剂四	液体30mL×1瓶	2-8℃
标准品	粉剂×1支	2-8℃

溶液的配制：

1. 试剂二：临用前先加入14mL蒸馏水，震荡使其充分溶解（若溶解后的试剂中有黑色颗粒物，可离心后取上清使用），用不完的试剂4℃保存2周。
2. 工作液的配制：临用前将试剂三和试剂四1:1等体积混合，根据样本实际所需用量现配现用。
3. 标准品：临用前加入1mL蒸馏水配制成50μmol/mL的麦芽糖标准溶液，用不完的试剂4℃保存2周。然后用蒸馏水16倍稀释成3.125μmol/mL的麦芽糖标准溶液（建议吸取25μL 50μmol/mL麦芽糖标准溶液，加入375μL蒸馏水中，充分混匀）待测。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、1mL玻璃比色皿、低温离心机、恒温水浴锅、可调式移液枪、研钵/匀浆器、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）

细菌或培养细胞：先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，超声波破碎细胞（功率200W，超声3s，间隔9s，重复30次）；然后8000g，4℃，离心10min，取上清（若上清不够澄清，建议重复上述离心步骤），置于冰上待检。

组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为1：5~10的比例（建议称取约0.1g组织，加入1mL提取液），进行冰浴匀浆。8000 g，4℃，离心10min，取上清（若上清不够澄清，建议重复上述离心步骤，置于冰上待检。

二、测定步骤

1. 可见分光光度计预热30min以上，调节波长至505nm，蒸馏水调零。
2. 在EP管中进行如下操作：



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

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

(1) 酶促反应

试剂名称 (μL)	对照管	测定管	标准管	空白管
样本	100	100	-	-
试剂一	-	100	-	-
标准溶液	-	-	100	-
蒸馏水	-	-	100	200
充分混匀, 35°C水浴反应2h, 沸水浴5min终止反应, 冷却至室温				
试剂一	100	-	-	-
试剂二	200	200	200	200
混匀, 40°C过夜反应 (12h以上), 沸水浴5min终止反应, 冷却至室温。10000g, 25°C离心10min, 取上清待测。				

(2) 显色反应 (在EP管中进行以下操作)

试剂名称 (μL)	对照管	测定管	标准管	空白管
上清液	100	100	100	100
工作液	900	900	900	900
充分混匀, 37°C反应30min, 于1mL玻璃比色皿中测定505nm处的吸光值, 分别记为A对照、A测定、A标准与A空白, $\Delta A_{测定}=A_{对照}-A_{测定}$ 、 $\Delta A_{标准}=A_{标准}-A_{空白}$ 。				

注: 空白管和标准空白管均只需做1-2次。

三、酶活性计算

1. 按样本蛋白浓度计算:

单位的定义: 每mg组织蛋白每分钟催化1nmol麦芽糖生成1nmol海藻糖定义为一个酶活力单位。

$$TS_{酶活} (U/mg \text{ prot}) = C_{标} \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \times V_{样} \div (V_{样} \times C_{pr}) \div T \times F \div 2 = 13.02 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div C_{pr} \times F$$

2. 按样本质量计算:

单位的定义: 每g组织每分钟催化1nmol麦芽糖生成1nmol海藻糖定义为一个酶活力单位。

$$TS_{酶活} (U/g \text{ 质量}) = C_{标} \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \times V_{样} \div (V_{样} \div V_{样总} \times W) \div T \times F \div 2 = 13.02 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div W \times F$$

3. 按细菌或细胞数量计算:

单位的定义: 每 10^4 个细菌或细胞每分钟催化1nmol麦芽糖生成1nmol海藻糖定义为一个酶活力单位。

$$TS_{酶活} (U/10^4 \text{ cell}) = C_{标} \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \times V_{样} \div (V_{样} \div V_{样总} \times \text{cell}) \div T \times F \div 2 = 13.02 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div \text{cell} \times F$$

C标: 标准管浓度, $3.125 \mu\text{mol/mL} = 3.125 \times 10^3 \text{ nmol/mL}$; V样总: 加入提取液体积, 1mL; V样: 加入样本体积, 0.1mL; T: 反应时间, 120min; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; cell: 细胞或细菌总数, 以万计; F: 稀释倍数; 2: 1分子麦芽糖可转化为2分子葡萄糖。

注意事项:

- 当吸光值大于1.5或者 $\Delta A_{测定}$ 大于1时, 建议将样本用蒸馏水稀释后测量。计算公式注意乘以稀释倍数。



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

QQ: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com