胆汁盐水解酶（BSH）活性测定试剂盒（微板法）

产品货号：BA3534

产品规格：96 样

产品简介：

胆汁盐水解酶(BSH)是一种肠道菌群在生长发育中产生的代谢产物。BSH 在胆汁酸代谢及肝肠循环中具有重要作用，BSH 可以调节胆汁酸代谢从而影响宿主的脂质代谢和胆固醇动态平衡，另外可以改善食用动物的生长性能和饲料效率等作用。

BSH 能催化胆汁酸的水解反应，释放出游离氨基化合物。TNBS(2,4,6-三硝基苯磺酸)与游离氨基反应生成黄色复合物，通过测定 420nm 处吸光值，来定量胆汁盐水解酶活性。

产品组成：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 120mL×1 瓶	2-8℃	
试剂一	液体 1.2mL×1 支	2-8℃	临用前取 0.25mL 试剂一至一新 EP 管中，再加入 1mL 二甲基亚砜(DMSO)，混匀备用(可分装保存，且低温该试剂会凝固，用之前可解冻至溶解状态再使用)。
试剂二	液体 90mL×1 瓶	2-8℃	
试剂三	A 液：液体 0.6mL×1 支 B 液：液体 30mL×1 瓶	-20℃	临用前吸取 20μL 的试剂三 A 至一新 EP 管中，再加入 980μL 的试剂三 B，混匀作为试剂三使用(A 液:B 液=1:49)(现配现用，避光保存，一周内用完)。
标准品	粉剂 mg×1 支	2-8℃	若重新做标曲，则用到该试剂。

所需的仪器和用品：

酶标仪、96 孔板、水浴锅/恒温培养箱、台式离心机、可调式移液器、研钵、二甲基亚砜(DMS0)。

胆汁盐水解酶(BSH)活性测定活性测定：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品和实验流程，避免样本和试剂浪费!

1. 样本制备：

(1) 组织样本：取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液，进行冰浴匀浆。12000rpm，4°C 离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量(g):试剂一体积(mL)为 1:5~10 的比例提取。

(2) 细菌/细胞样本：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取 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°C 离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照细菌或细胞数量(10^4 个):提取液体积(mL)为 500~1000:1 的比例提取。

(3) 液体样本：直接检测。若浑浊，12000rpm，4°C 离心 10min 后取上清检测。

2. 上机测定：

(1) 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 420nm。

(2) 孵育阶段：试剂一和二可预先解冻至室温或 37°C 孵育 5-10min。在 EP 管中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管	对照管
上清液	40	40
试剂一	40	
试剂二	320	360
混匀，37°C 避光孵育 30min。		
95°C 孵育 10min，若有沉淀，25°C×8000rpm 离心 5min，取上清液待测。		

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

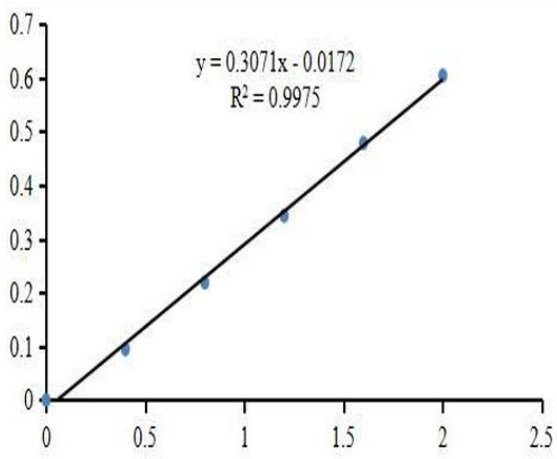
(3) 显色阶段：在 96 孔板中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管	对照管
上清液	100	100
试剂三	100	100
混匀，50°C 孵育 20min，于 420nm 处测定吸光值 A。 ΔA=A 测定-A 对照(每个样本需做一个自身对照)。		

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。

结果计算：

1. 标准曲线方程：y=0.3071x-0.0172，x 为标准品质量(μg)；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. 按样本鲜重计算：

酶活定义：每克组织每小时催化产生 1μg 牛磺酸所需的酶量定义为一个酶活力单位。

BSH(μg/h/g 鲜重)=[(ΔA+0.0172)÷0.3071]×4÷(W×V1÷V)÷T=651.25×((ΔA+0.0172)÷W

3. 按细菌或细胞密度计算：

酶活定义：每 1 万个细菌或细胞每小时催化产生 1μg 牛磺酸所需酶量定为一个酶活力单位。

BSH(μg/h/10^4 cell)=[(ΔA+0.0172)÷0.3071]×4÷(500×V1÷V)÷T=1.31×(ΔA+0.0172)

4. 按液体体积计算：

酶活定义：每毫升血清(浆)每小时催化产生 1μg 牛磺酸所需酶量定义为一个酶活力单位。

BSH(μg/h/mL)-[(ΔA+0.0172)÷0.3071]×4÷V1÷T=651.25×(ΔA+0.0172)

V---提取液体积，1mL；　　V1---反应体系中样本体积，0.04mL；

T--反应时间，30min=0.5h；　　W---样本质量，g；

4---孵育阶段总反应液体积与显色阶段上清液体积的比值；

500--细胞或细菌总数，万；　　Mr---标准品分子量，125.15。