

## 海藻糖合成酶（TS）活性检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1941

产品规格：100T/48S

### 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60mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体6mL×1瓶	2-8℃
试剂二	粉剂×2瓶	2-8℃
试剂三	液体15mL×1瓶	2-8℃
试剂四	液体15mL×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6mL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8倍稀释成6.25μmol/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175μL蒸馏水中，充分混匀）待测，现配现用。

### 需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96孔板、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



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司  
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

1. 可见分光光度计/酶标仪预热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：

(1) 酶促反应

试剂名称 (μL)	对照管	测定管	标准管	空白管
样本	50	50	-	-
试剂一	-	50	-	-
标准溶液	-	-	50	-
蒸馏水	-	-	50	100
充分混匀，35℃水浴反应2h，沸水浴5min终止反应，冷却至室温				
试剂一	50	-	-	-
试剂二	100	100	100	100
混匀，40℃过夜反应(12h以上)，沸水浴5min终止反应，冷却至室温。10000g，25℃离心10min，取上清待测。				

(2) 显色反应 (在EP管或96孔板中进行以下操作)

试剂名称 (μL)	对照管	测定管	标准管	空白管
上清液	20	20	20	20
工作液	180	180	180	180
充分混匀，37℃反应30min，于微量玻璃比色皿或96孔板中测定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。

$$\begin{aligned} \text{TS酶活 (U/mg prot)} &= C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T \times F \times 1000 \div 2 \\ &= 26.041 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}} \times F \end{aligned}$$

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。

$$\begin{aligned} \text{TS酶活 (U/g 质量)} &= C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T \times F \times 1000 \div 2 \\ &= 26.041 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \times F \end{aligned}$$

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。

$$\begin{aligned} \text{TS酶活 (U/10}^4\text{cell)} &= C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{cell}) \div T \times F \times 1000 \div 2 \\ &= 26.041 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div \text{cell} \times F \end{aligned}$$

C标：标准管浓度，6.25μmol/mL；V样总：加入提取液体积，1mL；V样：加入样本体积，0.05mL；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：

1. 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

**上海尚宝生物科技有限公司**  
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com