



海藻糖合成酶(TS)活性检测试剂盒

中文名称：[海藻糖合成酶\(TS\)活性检测试剂盒](#)

英文名称：Trehalose synthase (TS) Activity Assay Kit

储存条件：2-8°C

产品包装：盒装

检测方法：微量法

有效期：6个月

产品规格：100T/48S

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂一	液体 6mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂二	粉剂×2 瓶	2-8°C保存
试剂三	液体 15mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂四	液体 15mL×1 瓶	2-8°C保存
标准品	粉剂×1 支	2-8°C保存

溶液的配制：

1、试剂二：临用前取一瓶先加入 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 2-8°C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

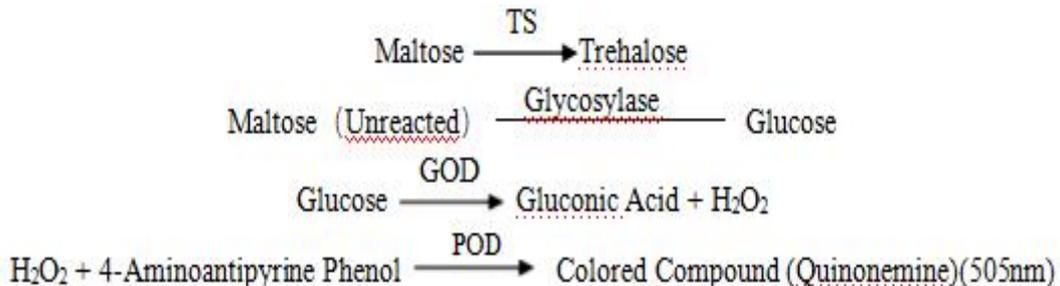


配现用。

3、标准品: 临用前加入 1 mL 蒸馏水配制成 50 μ mol/mL 的麦芽糖标准溶液, 用不完的试剂 2-8 $^{\circ}$ C 保存 2 周。然后用蒸馏水八倍稀释成 6.25 μ mol/mL 的麦芽糖标准溶液(建议吸取 25 μ L 50 μ mol/mL 麦芽糖标准溶液, 加入 175 μ L 蒸馏水中, 充分混匀)待测, 现用现配。

产品说明:

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。

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)

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 1 mL 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 8000 g，4°C,离心 10 min，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 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液)，进行冰浴匀浆。8000 g，4°C,离心 10 min，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、分光光度计/酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 505 nm，蒸馏水调零。

2、操作表：

(1)酶促反应(在 EP 管中进行以下操作)：

加入试剂(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°C水浴反应 2 h，沸水浴 5 min 终止反应，冷却至室温				
试剂一	50	-	-	-
试剂二	100	100	100	100
混匀，40°C过夜反应(12 h 以上)，沸水浴 5 min 终止反应，冷却至室温。10000 g，25°C离心 10 min，取上清待测。				

(2)显色反应(在 EP 管或 96 孔板中进行以下操作)

加入试剂(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°C反应 30 min，于微量玻璃比色皿或 96 孔板中测定 505 nm 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：空白管和标准管只需测 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 1 nmol 麦芽糖生成 1 nmol 海藻糖定义为一个酶

活力单位。TS 酶活(U/mg prot)= $C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T \times F \times 1000$
 $\div 2 = 26.041 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{pr}} \times F$

2、按样本质量计算：

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

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

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 1 nmol 麦芽糖生成 1 nmol 海藻糖定义为一个酶活力单位。

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

C 标：标准管浓度，6.25 μ mol/mL；V 样总：加入提取液体积，1 mL；V 样：加入样本体积，0.05 mL；T：反应时间，120 min；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；1000：单位换算系数，1 μ mol=1000 nmol；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 ΔA 测定大于 1 时，建议将样本稀释后测量。计算公式注意乘以稀释倍数。

实验实例：



1、取 0.1 g 小鼠肝脏加入 1 mL 提取液进行匀浆研磨，取上清用蒸馏水稀释 2 倍后按照测定步骤操作，用 96 孔板测定后计算 ΔA 测定 = A 对照 - A 测定 = 1.177 - 0.536 = 0.641、 ΔA 标准 = A 标准 - A 空白 = 1.031 - 0.049 = 0.982，按样本质量计算酶活得：

TS 酶活 (U/g 质量) = $26.041 \times \Delta A$ 测定 \div ΔA 标准 \div W \times F = 339.965 U/g 质量。

2、取 0.1 g 海带加入 1 mL 提取液进行匀浆研磨，取上清按照测定步骤操作，用 96 孔板测定后计算 ΔA 测定 = A

对照 - A 测定 = 1.366 - 0.793 = 0.573 ΔA ，标准 = A 标准 - A 空白 = 1.031 - 0.049 = 0.982，按样

本质量计算酶活得：TS 酶活 (U/g 质量) = $26.041 \times \Delta A$ 测定 \div ΔA 标准 \div W \times F = 151.950 U/g 质量。