



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：可见分光光度法

有效期：6个月

产品规格：50T/24S

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 30mL×1 瓶	4°C保存
试剂一	液体 7mL×1 瓶	4°C保存
试剂二	粉剂×1 瓶	4°C保存
试剂三	液体 30mL×1 瓶	4°C保存
试剂四	液体 30mL×1 瓶	4°C保存
标准品	粉剂×1 支	4°C保存

溶液的配制：

1、试剂二：临用前先加入 14 mL 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°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 4 $^{\circ}$ C保存 2 周。然后用蒸馏水 16 倍稀释成 3.125 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 375 μ L 蒸馏水中，充分混匀）待测。

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同寻常的保护作用。

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、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)

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 $^{\circ}$ 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、分光光度计预热 30 min 以上, 调节波长至 505 nm, 蒸馏水调零。
- 2、在 EP 管中进行如下操作:

(1) 酶促反应

加入试剂(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 2 h, 沸水浴 5 min 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(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	100	100	100	100
工作液	900	900	900	900
充分混匀, 37°C 反应 30 min, 于 1 mL 玻璃比色皿中测定 505 nm 处的吸光值, 分别记为 A 对照、A 测定、A 标准与 A 空白, $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{对照}} - A_{\text{测定}}$ 、 $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。				

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

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

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 1nmol 海藻糖定义为一个酶活力单位。TS 酶活(U/ 10^4 cell)= $C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{cell}) \div T \times F \div 2 = 13.02 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div \text{cell} \times F$

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，1 mL；V 样：加入样本体积，0.1 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；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 1mL 玻璃比色皿测得计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{对照}} - A_{\text{测定}} = 1.471 - 0.817 = 0.654$ 、
 $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}} = 0.790 - 0.003 = 0.787$ ，按样本质量计算酶活得：



TS 酶活(U/g 质量) = $13.02 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \times F = 216.393 \text{ U/g 质量}$ 。

2、取 0.1 g 海带加入 1 mL 提取液进行匀浆研磨，取上清用蒸馏水稀释 2 倍后按照测定步骤操作，用 1 mL 玻璃比色皿测得计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{对照}} - A_{\text{测定}} = 1.059 - 0.629 = 0.430$ 、 $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}} = 0.790 - 0.003 = 0.787$ ，按样本质量计算酶活得：TS 酶活 (U/g 质量) = $13.02 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \times F = 142.277 \text{ U/g 质量}$ 。