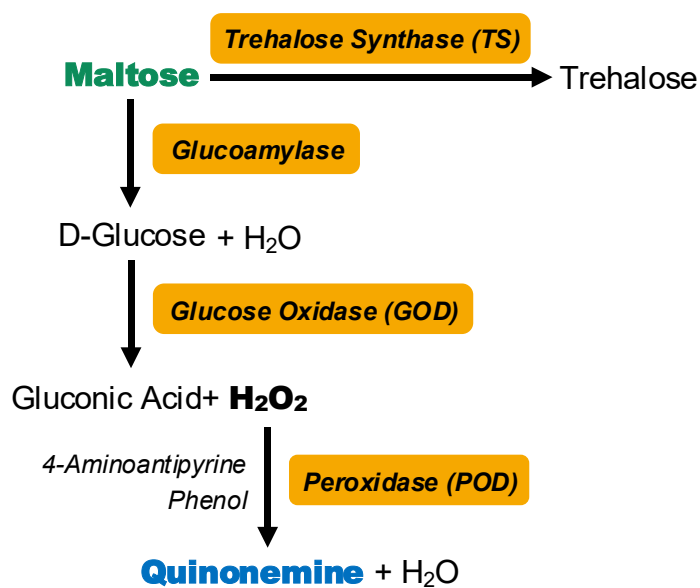




海藻糖合成酶 (TS) 活性检测试剂盒  
Trehalose Synthase (TS) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司  
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



## 海藻糖合成酶 (TS) 活性检测试剂盒

## Trehalose Synthase (TS) Activity Assay Kit

## 一、产品描述

海藻糖是一种天然存在的非还原性二糖，对生物膜和蛋白质等大分子有着非特异性的保护作用，在食品、医药、化妆品等多个领域中都有广泛的发展空间。海藻糖合成酶是一类分子内转糖苷酶，能够专一性催化麦芽糖一步转化为海藻糖，在海藻糖生物合成领域具有良好的应用前景。

海藻糖合成酶能够催化麦芽糖生成海藻糖，使用糖化酶将剩余麦芽糖分解为葡萄糖，通过葡萄糖氧化酶法测定葡萄糖含量，按照麦芽糖消耗速率即可表征海藻糖合成酶的活性。

## 二、产品内容

| 名称                                                                                     | 试剂规格         | 储存条件  | 使用说明及注意事项                                               |
|----------------------------------------------------------------------------------------|--------------|-------|---------------------------------------------------------|
| 提取液                                                                                    | 液体 30 mL×1 瓶 | 4°C保存 | -                                                       |
| 试剂一                                                                                    | 液体 9 mL×1 瓶  | 4°C保存 | -                                                       |
| 试剂二                                                                                    | 粉剂×1 瓶       | 4°C保存 | 使用前每瓶加入 12 mL 蒸馏水充分溶解<br>(配制后 4°C可保存 2 周)               |
| 试剂三                                                                                    | 液体 30 mL×1 瓶 | 4°C保存 | -                                                       |
| 试剂四                                                                                    | 液体 30 mL×1 瓶 | 4°C保存 | -                                                       |
| 标准液                                                                                    | 粉剂×1 支       | 4°C保存 | 使用前加入 1 mL 蒸馏水充分溶解<br>(即为 50 $\mu\text{mol/mL}$ 麦芽糖标准液) |
| 标准应用液的制备：将 50 $\mu\text{mol/mL}$ 麦芽糖标准液使用蒸馏水稀释 16 倍至 3.125 $\mu\text{mol/mL}$ 即为标准应用液。 |              |       |                                                         |

## 三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿（光径 10 mm）、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

## 1.粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①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 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，4°C 8000 g 离心 10 min，取上清液置于冰上待测。

②细菌或细胞:离心收集细菌或细胞至离心管内,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(建议500万细菌或细胞加入1 mL提取液)处理样品,冰浴超声破碎(功率200 W,超声3 s,间隔10 s,重复30次),4℃8000 g离心10 min,取上清液置于冰上待测。

## 2.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检测工作液的制备(现用现配):根据使用量按照试剂三:试剂四=1:1的体积比配制。

③在离心管中依次加入下列试剂:

| 试剂                       | 测定管<br>( $\mu$ L) | 对照管<br>( $\mu$ L) | 标准管<br>( $\mu$ L) | 空白管<br>( $\mu$ L) |
|--------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| 粗酶液                      | 100               | 100               | -                 | -                 |
| 试剂一                      | 100               | -                 | -                 | -                 |
| ①充分混匀,37℃准确反应2 h         |                   |                   |                   |                   |
| ②沸水浴处理5 min,冷却至室温        |                   |                   |                   |                   |
| 试剂一                      | -                 | 100               | -                 | -                 |
| 标准应用液                    | -                 | -                 | 100               | -                 |
| 蒸馏水                      | -                 | -                 | 100               | 200               |
| 试剂二                      | 200               | 200               | 200               | 200               |
| ①充分混匀,40℃反应12 h;         |                   |                   |                   |                   |
| ②沸水浴处理5 min,冷却至室温;       |                   |                   |                   |                   |
| ③10000 g室温离心10 min,取上清液; |                   |                   |                   |                   |
| 上清液                      | 100               | 100               | 100               | 100               |
| 检测工作液                    | 900               | 900               | 900               | 900               |
| 充分混匀,37℃显色30 min         |                   |                   |                   |                   |

注:沸水浴处理过程中注意密封以防止水分散失。

**吸光值测定:**将反应液置于1 mL玻璃比色皿中,测定505 nm处吸光值,记为A测定、A对照、A标准和A空白;计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{对照}} - A_{\text{测定}}$ ,  $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。注:空白管只需测定1-2次,每个样品均需设一个对照组。

### 3.海藻糖合成酶 (TS) 活性计算

#### ①按组织蛋白浓度计算

单位定义: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。

$$TS \text{ (U/mg prot)} = \frac{C \text{ 标} \times \Delta A \text{ 测定} \times V \text{ 样}}{\Delta A \text{ 标准} \times V \text{ 样} \times Cpr \times T \times 2} = \frac{13.02 \times \Delta A \text{ 测定}}{Cpr \times \Delta A \text{ 标准}}$$

#### ②按组织样本质量计算

单位定义: 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。

$$TS \text{ (U/g)} = \frac{C \text{ 标} \times \Delta A \text{ 测定} \times V \text{ 样} \times V \text{ 样总}}{\Delta A \text{ 标准} \times V \text{ 样} \times W \times T \times 2} = \frac{13.02 \times \Delta A \text{ 测定}}{W \times \Delta A \text{ 标准}}$$

#### ③按细菌或细胞数量计算

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

$$TS \text{ (U/}10^4 \text{ cell)} = \frac{C \text{ 标} \times \Delta A \text{ 测定} \times V \text{ 样} \times V \text{ 样总}}{\Delta A \text{ 标准} \times V \text{ 样} \times \text{细菌或细胞数量} \times T \times 2} = \frac{13.02 \times \Delta A \text{ 测定}}{\text{细菌或细胞数量} \times \Delta A \text{ 标准}}$$

**注释:** C 标: 标准应用液浓度,  $3.125 \mu\text{mol/mL} = 3.125 \times 10^3 \text{ nmol/mL}$ ; V 样总: 粗酶液总体积, 1 mL; V 样: 反应体系中加入粗酶液的体积, 0.1 mL; T: 反应时间, 120 min; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; 细胞或细菌数量: 以万计; 2: 单位换算系数, 1 分子麦芽糖可转化为 2 分子葡萄糖。

### 四、注意事项

①若 A 测定大于 1.2 或  $\Delta A$  测定大于 1.0 时, 建议将粗酶液适当稀释后再进行测定, 计算时相应修改;

②为保证结果准确且避免试剂损失, 测定前请仔细阅读说明书 (以实际收到说明书内容为准), 确认试剂储存和准备是否充分, 操作步骤是否清楚, 且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定, 过程中问题请您及时与工作人员联系。

**For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.**

**boxbio**

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Liaodong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

