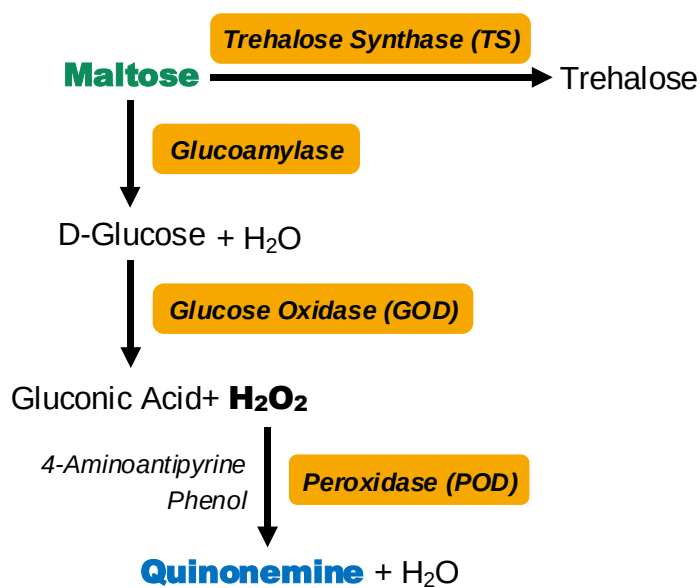




海藻糖合成酶 (TS) 活性检测试剂盒
Trehalose Synthase (TS) Activity Assay Kit



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 60 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂一	液体 6 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂二	粉剂×2 瓶	4°C保存	使用前每瓶加入 6 mL 蒸馏水充分溶解 (配制后 4°C可保存 2 周)
试剂三	液体 15 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂四	液体 15 mL×1 瓶	4°C保存	-
标准品	粉剂×1 支	4°C保存	使用前加入 1 mL 蒸馏水充分溶解 (即为 50 μ mol/mL 麦芽糖标准液)
标准应用液的制备：将 50 μ mol/mL 麦芽糖标准液使用蒸馏水稀释 10 倍至 5 μ 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/酶标仪、微量玻璃比色皿（光径 10 mm）/96 孔板、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°C 8000 g离心10 min,取上清液置于冰上待测。

2.测定步骤

①分光光度计或酶标仪预热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 (μ L)	对照管 (μ L)	标准管 (μ L)	空白管 (μ L)
粗酶液	50	50	-	-
试剂一	50	-	-	-
①充分混匀, 35°C准确反应2 h				
②沸水浴处理5 min, 冷却至室温				
试剂一	-	50	-	-
标准应用液	-	-	50	-
蒸馏水	-	-	50	100
试剂二	100	100	100	100
①充分混匀, 40°C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	20	20	20	20
检测工作液	180	180	180	180
充分混匀, 37°C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:吸取200 μ L反应液至96孔板或微量玻璃比色皿中,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管。

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。

$$TS (U/mg \text{ prot}) = \frac{C \text{ 标} \times \Delta A \text{ 测定} \times V \text{ 样}}{\Delta A \text{ 标准} \times V \text{ 样} \times Cpr \times T \times 2} = \frac{20.83 \times \Delta A \text{ 测定}}{Cpr \times \Delta A \text{ 标准}}$$

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。

$$TS (U/g) = \frac{C \text{ 标} \times \Delta A \text{ 测定} \times V \text{ 样} \times V \text{ 样总}}{\Delta A \text{ 标准} \times V \text{ 样} \times W \times T \times 2} = \frac{20.83 \times \Delta A \text{ 测定}}{W \times \Delta A \text{ 标准}}$$

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。

$$TS (U/10^4 \text{ cell}) = \frac{C \text{ 标} \times \Delta A \text{ 测定} \times V \text{ 样} \times V \text{ 样总}}{\Delta A \text{ 标准} \times V \text{ 样} \times \text{细菌或细胞数量} \times T \times 2} = \frac{20.83 \times \Delta A \text{ 测定}}{\text{细菌或细胞数量} \times \Delta A \text{ 标准}}$$

注释: C 标: 标准应用液浓度, $5 \mu\text{mol/mL} = 5 \times 10^3 \text{ nmol/mL}$; 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, 0.05 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 ΔA 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.

