

海藻糖酶检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1178

保存：4℃避光保存 12 个月

规格：48T/96T

检测范围：0.0625-4mmol/L（标准品浓度） 灵敏度：0.0156mmol/L（标准品浓度）

适用样本：血清（浆）、动物组织、细胞、细菌、真菌等样本

产品简介

海藻糖酶（Trehalase, THL）（EC 3.2.1.28）广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中。海藻糖酶主要功能在于生物体分解海藻糖生成葡萄糖而直接用于能量供应。本试剂盒提供了一种简单易用的比色法，用于分析各种生物样品中海藻糖酶的活性。其原理是海藻糖酶催化海藻糖产生葡萄糖，葡萄糖氧化酶催化葡萄糖氧化成葡萄糖酸，并产生过氧化氢；过氧化物酶催化过氧化氢氧化 4-氨基安替比林偶联酚，生成有色化合物，在 505nm 有特征吸收峰。在一定的浓度范围内产生葡萄糖的量与 505nm 吸光度成线性关系，根据标准曲线即可计算出样品产生葡萄糖的量，以此反映海藻糖酶活性。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃
试剂一	3mL	6mL	4℃
试剂二	5mL	10mL	4℃避光保存
试剂三	5mL	10mL	4℃避光保存
标准品（葡萄糖）	1mL	1mL	4℃

自备耗材

酶标仪或可见分光光度计（能测 505nm 处的吸光度）

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

水浴锅、低温离心机和制冰机

去离子水

匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

注意：各组分（小管试剂）开盖前，请先低速离心。

提取液：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂二：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

试剂三：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

工作液配制：使用前将试剂二和试剂三等体积混合，按需求配置。

标准曲线设置：按下表所示用去离子水将 4mmol/L 标准品稀释为 4、2、1、0.5、0.25、0.125、0.0625 mmol/L 的标准溶液。

	标准品体积	去离子水体积 (μL)	浓度 (mmol/L)
--	-------	-------------	-------------

产品说明书

Std. 1	200μL 4mmol/L	0	4
Std. 2	100μL of Std. 1 (4mmol/L)	100	2
Std. 3	100μL of Std. 2 (2mmol/L)	100	1
Std. 4	100μL of Std. 3 (1mmol/L)	100	0.5
Std. 5	100μL of Std. 4 (0.5mmol/L)	100	0.25
Std. 6	100μL of Std. 5 (0.25mmol/L)	100	0.125
Std. 7	100μL of Std. 6 (0.125mmol/L)	100	0.0625

注意：每次实验，请使用新配制的标准品。

样本制备

动植物组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆。8000g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

细胞或细菌：收集 500 万细胞或细菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞，离心后弃上清，加入 1mL 提取液，超声波破碎细胞或细菌 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次）。8000g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

血清、血浆或其它生物学液体：取 0.1mL 液体样本加入 1mL 提取液，混匀。8000g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用 BCA 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

1. 酶标仪或可见光分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 505nm，可见光分光光度计去离子水调零。
2. 在 EP 管中按照如下方式加样：

试剂	空白管 (μL)	标准管 (μL)	测定管 (μL)	对照管 (μL)
样本	0	0	30	30
标准品	0	30	0	0
去离子水	30	0	0	50
试剂一	50	50	50	0

盖紧盖子混匀，45℃水浴，准确反应 15min，95℃水浴 5 分钟终止反应，得混合液(若出现沉淀可 10000g 4℃离心 10min 后取上清)加入 96 孔板或微量玻璃比色皿中。

混合液	20	20	20	20
工作液	180	180	180	180

混匀，置 37℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）保温 15min 后于 505nm 波长处读取吸光度。计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。空白管只需测定一次，每个测定管需设一个对照管。

注意：正式测定前务必选择 1-2 个预期差异较大的样本做预实验，如样本值高于 0.6，样本可用提取液进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数。

产品说明书

结果计算

1. 标准曲线绘制:

以葡萄糖标准品浓度 (mmol/L) 为 y 轴, $\Delta A_{\text{标}}$ 为 x 轴, 绘制标准曲线 (浓度为 y 轴更方便计算结果)。将 $\Delta A_{\text{测}}$ 代入公式计算出 y (mmol/L), 即葡萄糖的量。

2. 样本海藻糖酶活性计算

(1) 按样本鲜重计算

活性单位的定义: 每 g 组织蛋白在反应体系中每分钟催化生成 1nmol 的葡萄糖定义为一个酶活力单位。

海藻糖酶 (U/g 鲜重) = $1000 \times y \times V_{\text{反应}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T \times n = 178y \div W \times n$

(2) 按细菌或细胞数量计算

单位的定义: 每 1 万个细菌或细胞在反应体系中每分钟催化生成 1nmol 的葡萄糖定义为一个酶活力单位。

海藻糖酶 (U/ 10^4 cell) = $1000 \times y \times V_{\text{反应}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \times n = 0.356y \times n$

(3) 按液体样本体积计算

单位的定义: 每 mL 液体样本在反应体系中每分钟催化生成 1nmol 的葡萄糖定义为一个酶活力单位。

海藻糖酶 (U/mL) = $1000 \times y \times V_{\text{反应}} \div (V_{\text{液}} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \times n = 1778y \times n$

(4) 按样本蛋白浓度计算

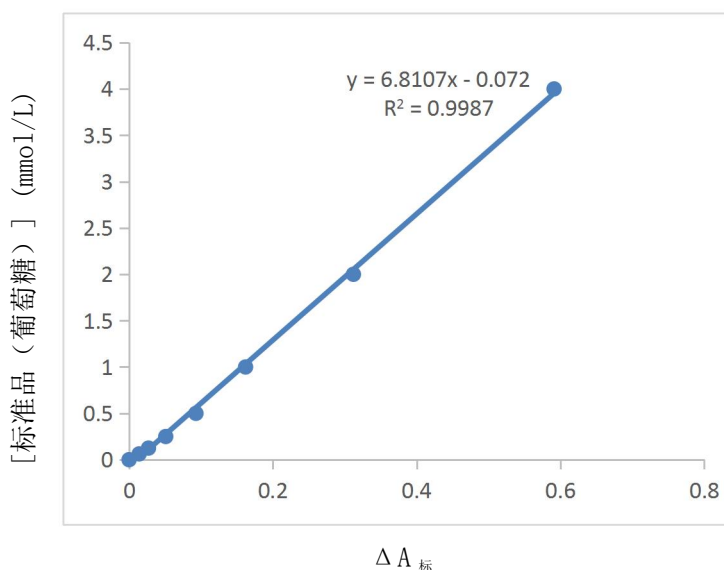
单位的定义: 每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟催化生成 1nmol 的葡萄糖定义为一个酶活力单位。

海藻糖酶 (U/mg prot) = $1000 \times y \times V_{\text{反应}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T \times n = 178y \div C_{\text{pr}} \times n$

1000: 单位换算系数, 1mmol/L=1000nmol/mL; $V_{\text{反应}}$: 反应体系总体积, 0.08mL; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.03mL; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL; W: 样品质量, 0.1g; T: 反应时间, 15min; n: 样本稀释倍数; 500: 细菌或细胞数量, 500万; $V_{\text{液}}$: 液体样本体积, 0.1mL; C_{pr} : 样本蛋白质浓度, mg/mL。

结果展示

典型标准曲线-以下数据和曲线仅供参考, 实验者需根据自己的实验建立标准曲线。



注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验, 尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究, 如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途, 我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用, 并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用; 否则, 可能导致结果异常。
5. 勤换吸头, 避免各组分之间的交叉污染。

相关产品:

PMK1177 海藻糖检测试剂盒 (微量法)

产品说明书

PMK1176 糖原检测试剂盒（微量法）
PMK1197 总糖检测试剂盒（微量法）
PMK1181 还原糖检测试剂盒（微量法）
PMK1175 植物可溶性糖检测试剂盒（微量法）
PMK1174 血糖检测试剂盒（微量法）

更多产品详情了解，请关注公众号：

