

海藻糖合成酶(TS)检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1205

保存：4℃避光保存 12 个月

规格：48T/96T

适用样本：动植物组织、细胞、细菌、真菌

产品简介

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体组织有着非特异性的保护作用。海藻糖合成酶（Trehalose Synthase）催化麦芽糖合成海藻糖，是海藻糖生物合成的关键途径之一。本试剂盒可检测各种生物样本中的 TS 活性，其原理是 TS 催化麦芽糖产生海藻糖，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℃保存
试剂一	6mL	12mL	4℃保存
试剂二	6mL	12mL	4℃保存
试剂三	5mL	10mL	4℃避光保存
试剂四	5mL	10mL	4℃避光保存
标准品	1mL	1mL	4℃保存

自备耗材

酶标仪或可见光分光光度计（能测 505nm 处的吸光度）及水浴锅
96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头
低温离心机、制冰机
去离子水、PBS
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；4℃保存。

试剂一：含 4mM 麦芽糖，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℃保存。

试剂三：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

试剂四：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

工作液配制：临用前将试剂三和试剂四按照 1:1 的比例混合，用多少配多少。

标准曲线设置：按下表所示用去离子水将 4 mmol/L 葡萄糖标准品稀释为 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	200 μL 4 mmol/L	0	4
Std. 2	100 μL of Std. 1 (4 mmol/L)	100	2
Std. 3	100 μL of Std. 2 (2 mmol/L)	100	1
Std. 4	100 μL of Std. 3 (1 mmol/L)	100	0.5
Std. 5	100 μL of Std. 4 (0.5 mmol/L)	100	0.25
Std. 6	100 μL of Std. 5 (0.25 mmol/L)	100	0.125
Std. 7	100 μL of Std. 6 (0.125 mmol/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，8,000g，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）；8,000g，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

实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30 min 以上，调节波长到 505nm，可见分光光度计去离子水调零。
2. 样本测定（在 EP 管中加入如下试剂）：

	对照 (μL)	测定 (μL)
样本	100	100
试剂一	0	100

混匀，40℃水浴反应 2h，然后 95℃水浴 10min 终止反应，冷却至室温。

试剂一	100	0
试剂二	100	100

混匀，60℃过夜反应（12h 以上），10000g，25℃离心 10min，取上清代测。

显色反应（在 96 孔板或微量玻璃比色皿加入如下试剂）：

	对照 (μL)	测定 (μL)	标准 (μL)	空白 (μL)
样本上清液	20	20	0	0
不同浓度标准品	0	0	20	0
去离子水	0	0	0	20
工作液	180	180	180	180

混匀，37℃反应 30min，于 505nm 处读取吸光值；计算测定管 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。

注意：1. 空白和标准曲线只需测一次；每个样本测定需要设置一个对照。

2. 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 $\Delta A_{\text{测}}$ 小于 0.005 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 大于 1.5，样本可用去离子水进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数。

产品说明书

结果计算

1. 标准曲线的绘制:

以标准液浓度为 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 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入方程计算出 y (mmol/L 即 $\mu\text{mol/mL}$)。

2. TS 活性的计算:

(1) 按样本鲜重计算

单位的定义: 每 g 组织在反应体系中每分钟催化 1nmol 麦芽糖产生 1nmol 海藻糖定义为一个酶活力单位。

TS 活力 (U/g 鲜重) = $(4 \div 3 - y \div 2) \times V_{\text{反应}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \times 1000 = 16.67 \times (1.333 - 0.5y) \div W$

(2) 按细胞或细菌数目计算

单位的定义: 每 1 万个细胞或细菌在反应体系中每分钟催化 1nmol 麦芽糖产生 1nmol 海藻糖定义为一个酶活力单位。

TS 活力 (U/ 10^4 cells) = $(4 \div 3 - y \div 2) \times V_{\text{反应}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \times 1000 = 0.033 \times (1.333 - 0.5y)$

(3) 按蛋白浓度计算

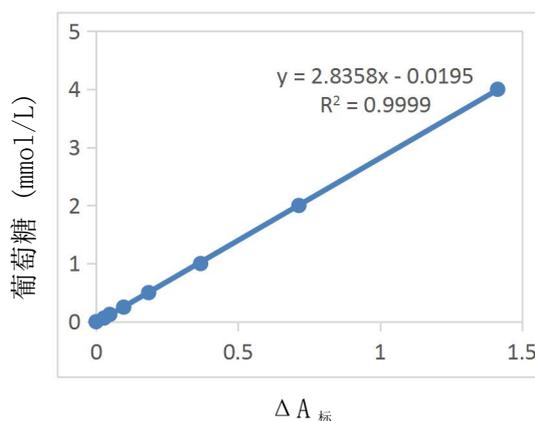
单位的定义: 每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟催化 1nmol 麦芽糖产生 1nmol 海藻糖定义为一个酶活力单位。

TS 活力 (U/mg prot) = $(4 \div 3 - y \div 2) \times V_{\text{反应}} \div (Cpr \times V_{\text{样}}) \div T \times 1000 = 16.67 \times (1.333 - 0.5y) \div Cpr$

4: 试剂一中麦芽糖浓度, 4mM 即 $4\mu\text{mol/mL}$; 3: 麦芽糖在显色前的稀释倍数, $(100+100+100)/100=3$; 2: 将葡萄糖摩尔浓度转化为麦芽糖摩尔浓度的系数, 1 分子麦芽糖可产生 2 分子葡萄糖; $V_{\text{反应}}$: 反应体系总体积, 0.2mL; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.1mL; $V_{\text{样总}}$: 提取时加入提取液体积, 1mL; W: 样本质量, g; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; T: 反应时间, 120min; 1000, μmol 到 nmol 转换系数; 500: 细菌或细胞总数, 500 万。

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)
- PMK1178 海藻糖酶检测试剂盒 (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)
- PMK1164 葡萄糖检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解, 请关注公众号:

