

海藻糖酶 (THL) 测定试剂盒

比色法 50 管/24 样

一、测定原理:

THL 催化海藻糖产生葡萄糖, 经葡萄糖氧化酶作用生成葡萄糖酸和过氧化氢, 过氧化物酶催化过氧化氢跟 4-氨基安替比林偶联酚反应生成显色物, 在 505nm 处测定其吸光度值, 反映 THL 的酶活性。

二、需自备的仪器和用品:

可见分光光度计、水浴锅、可调式移液器、1ml 玻璃比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

三、试剂的组成和配制:

提取液: 液体 25ml×1 瓶, 4° C 保存;

试剂一: 液体 10ml×1 瓶, 4° C 保存;

试剂二: 液体 25ml×1 瓶, 4° C 保存;

试剂三: 液体 25ml×1 瓶, 4° C 保存。

如果出现结冰现象可以 37 温浴溶解后使用。

工作液: 试剂二和试剂三等比例混合, 需要多少配多少, 现配现用。

四、测定步骤:

1、样本前处理: 样本提取详见试剂盒内说明书。测定组织、细菌和细胞时需要测定蛋白浓度。可用总蛋白定量测试盒(考马斯亮蓝法)或者总蛋白定量测试盒(BCA 法)进行蛋白浓度的测定。

2、检测步骤:

	测定管	对照管
样本上清 (μl)	90	90
试剂一 (μl)	150	
蒸馏水 (μl)		150
45° C 水浴 1, 准确反应 15min, 95° C 水浴 5 分钟终止反应, 10000g 离心 10 分钟取上清		
上清 (μl)	100	100
工作液 (μl)	900	900
混匀, 盖紧后 95° C 水浴 5min, 冷却后, 检测 505nm 吸光度, 计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$		