天净沙系列

CAT#:7-EC3.2.1.35-400

低温运输和保存

透明质酸酶活性测定试剂盒（400 nm 分光光度法）

Hyaluronidase Assay Kit

使用手册 V1.0

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

透明质酸酶（Hyaluronidase，EC3.2.1.35）是一种内源性糖苷酶，能够降解透明质酸聚合物中的糖苷键。1929 年，Duran 等人首次在哺乳动物睾丸提取物中发现了透明质酸酶，因其对疫苗、染料、毒素等物质的扩散具有促进作用，故被称作“扩散因子”。近年来，透明质酸酶的研究成为热点，其功能和性质逐渐被揭示，在制药工业和临床医疗等领域的应用也慢慢得以明确。因此，检测透明质酸酶的活性具有重要意义。为此本公司开发了透明质酸酶活性测定试剂盒。其原理是透明质酸酶能水解透明质酸，而后者在适当的条件下，可以和显色成分反应产生在 400 nm 有光吸收的物质，通过检测这些物质而测定透明质酸酶的活性。本产品有如下特点：

1. 操作简单快捷。
2. 即开即用，用户不用单独准备各种试剂。
3. 专一性强，只能检测动物源性透明质酸酶，不能检测另外两种透明质酸酶。
4. 适用于检测天然和重组透明质酸酶检测。
5. 所能检测的线性范围在 0.4-2 U/mL 之间。
6. 本产品足够 100 次 1 mL 的比色皿检测和 400 次 0.2 mL 体积的 96 孔板检测。
7. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品使用塑料袋包装

成份	编号	规格	包装
底物干粉	7-EC3.2.1.35-400s1	100 T	30 mL 本色瓶
透明质酸酶反应液	7-EC3.2.1.35-400r	40 mL	60 mL 本色瓶
透明质酸酶显色液	7-EC3.2.1.35-400c	60 mL	60 mL 本色瓶
使用手册	7-EC3.2.1.35-400sc	1 份	无

运输及保存

低温运输，2-8℃保存，有效期一年。

自备物品

蒸馏水、待测样本、样本悬浮缓冲液（如果不详，可用产品的透明质酸酶缓冲液）、分光光度计

使用方法

一、首次试用本试剂盒时试剂制备：

1. 制备透明质酸酶底物液：在装有底物干粉的管中加入 20 mL 透明质酸酶反应液，充分溶解后得到透明质酸酶底物液，每次使用后需置于 4°C 条件下避光保存。

二、比色皿检测：

2. 如果有 N 个待测样本，每个只做一次重复，则标注 N+6 个试管，多出的

1 个用做空白管，5 个用作标准管。标准管（5 管）中分别加入 160、120、80、40、0 μL 透明质酸酶底物液，对应标曲的透明质酸消耗量 10、20、30、40、50 μg。

3. 按下表加入各成分：

成分	N 个样品管	空白管	标准管（5 管）
透明质酸酶底物液	各 200 μL	200 μL	160-0 μL
N 个待测样品（含酶）	各 200 μL	-	-
透明质酸酶反应液	-	200 μL	补至 400 μL
37℃精准反应 30 分钟后加入			
透明质酸酶显色液	600 μL	600 μL	600 μL

4. 用分光光度计在 400 nm 测定 OD，测前用自备的蒸馏水调零。

5. 空白管的 OD（A 空）分别减去样本得到的 OD（A 得）即得 N 个样本的 OD400 差值和 5 个标准曲线样本的 OD400 差值。

二、数据分析

6. 以透明质酸消耗量为横轴，以 OD400 差值为纵轴，以标准管的数据用 excel 绘制标准曲线并得到计算公式，可通过公式计算样本降解透明质酸的量，除以 50 μg 底物得透明质酸降解比例。

7. 单位定义：底物为 50 μg 的透明质酸，在测定条件下被透明质酸酶水解，使该底物浊度降低 50%的酶量为 1 单位（USP 单位）。

8. 按照下列公式计算透明质酸酶的比活：

$$\text{单位/mg} = \frac{\text{透明质酸降解比例}}{0.5 \times \text{管中酶的 mg 数}}$$

三、多孔板酶标仪检测

9. 同上，只是所有反应体系按比例缩小使得终体积跟酶标用多孔板兼容，最后在 400 nm 测定 OD。计算酶活性时，光径长度，反应体积，样本加入量与比色皿测定不同，故需要在计算时相应调整。

关联产品	乳酸脱氢酶活性测定试剂盒