

## Bile Salt Hydrolase Activity Assay Kit

### 胆汁盐水解酶 (BSH) 活性测定试剂盒说明书

货号: G0933W96 | 方法: 微板法 | 规格: 96 样

#### 一、产品简介:

胆汁盐水解酶 (BSH) 是一种肠道菌群在生长发育中产生的代谢产物。BSH 在胆汁酸代谢及肝肠循环中具有重要作用, BSH 可以调节胆汁酸代谢从而影响宿主的脂质代谢和胆固醇动态平衡, 另外可以改善食用动物的生长性能和饲料效率等作用。

BSH 能催化胆汁酸的水解反应, 释放出游离氨基化合物。TNBS (2,4,6-三硝基苯磺酸) 与游离氨基反应生成黄色复合物, 通过测定 420nm 处吸光值, 来定量胆汁盐水解酶活性。

#### 二、试剂盒组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 120mL×1 瓶	4°C 保存	
试剂一	液体 1.2mL×1 支	4°C 保存	临用前取 0.25mL 试剂一至一新 EP 管中, 再加入 1mL 二甲基亚砜 (DMSO), 混匀备用 (可分装保存, 且低温该试剂会凝固, 用之前可解冻至溶解状态再使用)。
试剂二	液体 90mL×1 瓶	4°C 保存	
试剂三	A 液: 液体 0.6mL×1 支 B 液: 液体 30mL×1 瓶	-20°C 保存	临用前吸取 20μL 的试剂三 A 至一新 EP 管中, 再加入 980μL 的试剂三 B, 混匀作为试剂三使用 (A 液:B 液=1:49) (现配现用, 避光保存, 一周内用完)。
标准品	粉体 mg×1 支	4°C 保存	若重新做标曲, 则用到该试剂。

#### 三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、水浴锅/恒温培养箱、台式离心机、可调式移液器、研钵、二甲基亚砜 (DMSO)。

#### 四、胆汁盐水解酶 (BSH) 活性测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品和实验流程, 避免样本和试剂浪费!

##### 1、样本制备:

① 组织样本: 取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆。12000rpm, 4°C 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照组织质量(g):试剂一体积(mL)为 1:5~10 的比例提取。

② 细菌/细胞样本: 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 取 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液, 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 12000rpm, 4°C 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照细菌或细胞数量( $10^4$  个):提取液体积(mL)为 500~1000:1 的比例提取。

③ 液体样本: 直接检测。若浑浊, 12000rpm, 4°C 离心 10min 后取上清检测。

##### 2、上机测定:

① 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 420nm。

② 孵育阶段: 试剂一和二可预先解冻至室温或 37°C 孵育 5-10min。在 EP 管中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
上清液	40	40
试剂一	40	

试剂二	320	360
混匀，37°C避光孵育 30min。		
95°C孵育 10min，若有沉淀，25°C×8000rpm 离心 5min， 取上清液待测。		

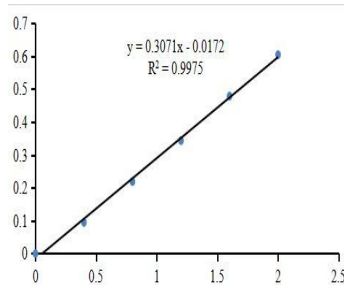
③ 显色阶段：在 96 孔板中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
上清液	100	100
试剂三	100	100
混匀，50°C孵育 20min，于 420nm 处测定吸光值 A。 ΔA=A 测定-A 对照（每个样本需做一个自身对照）。		

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；  
针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

## 五、结果计算：

1、标准曲线方程： $y=0.3071x-0.0172$ ，x 为标准品质量 (μg)；y 是 ΔA。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

2、按样本鲜重计算：

酶活定义：每克组织每小时催化产生 1μg 牛磺酸所需的酶量定义为一个酶活力单位。

$$BSH(\mu\text{g}/\text{h}/\text{g 鲜重})=[(\Delta A+0.0172)\div 0.3071]\times 4\div (W\times V1\div V)\div T=651.25\times (\Delta A+0.0172)\div W$$

3、按细菌或细胞密度计算：

酶活定义：每 1 万个细菌或细胞每小时催化产生 1μg 牛磺酸所需酶量定为一个酶活力单位。

$$BSH(\mu\text{g}/\text{h}/10^4 \text{ cell})=[(\Delta A+0.0172)\div 0.3071]\times 4\div (500\times V1\div V)\div T=1.31\times (\Delta A+0.0172)$$

4、按液体体积计算：

酶活定义：每毫升血清（浆）每小时催化产生 1μg 牛磺酸所需酶量定义为一个酶活力单位。

$$BSH(\mu\text{g}/\text{h}/\text{mL})=[(\Delta A+0.0172)\div 0.3071]\times 4\div V1\div T=651.25\times (\Delta A+0.0172)$$

V---提取液体积，1mL；

V1---反应体系中样本体积，0.04mL；

T---反应时间，30min=0.5h；

W---样本质量，g；

4---孵育阶段总反应液体积与显色阶段上清液体积的比值；

500---细胞或细菌总数，万；

Mr---标准品分子量，125.15。