

上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

蔗糖酶活性检测试剂盒说明书

微量法

注意：正式测定之前选择2-3个预期差异大的样本做预测定。

产品内容

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 50mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂一	液体 3mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂二	粉剂×1 支	4℃保存	用时加入 2mL 蒸馏水充分溶解；用不完的试剂 4℃可保存一周；
试剂三	液体 3mL×1 瓶	常温保存	-
标准品	粉剂×1 支	4℃保存	用时加入 1mL 蒸馏水充分溶解，制备10mg/mL 葡萄糖标准溶液待用；用不完的试剂 4℃保存一周。

产品说明：

蔗糖酶（EC 3.2.1.26）是碳水化合物消化吸收的关键酶之一，能够水解蔗糖变成相应的单糖而被机体吸收。

本试剂盒采用 3,5-二硝基水杨酸法测定蔗糖酶催化产生的还原糖的含量，由此可得出蔗糖酶水解速度。其原理是 3,5-二硝基水杨酸与还原糖共热被还原成棕红色的氨基化合物，在一定范围内还原糖的量和反应液的颜色深度成正比。此法操作简便、迅速、杂质干扰较小。

试验中所需的仪器和试剂：

可见分光光度计/酶标仪、恒温水浴锅、可调式移液器、玻璃微量比色皿/96孔板、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、 样品测定的准备：

1. 样品的准备：

按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液），进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

2. 标准品的制备：

将标准品用蒸馏水稀释至 3、2、1.5、1、0.5、0.25、0mg/mL（0mg/mL 为空白管）绘制标准曲线。

二、加样表和测定步骤：

试剂名称 (μL)	对照管	测定管	标准品
试剂一	10	10	10
蒸馏水	10		
样本	20	20	
标准品			20
试剂二		10	10
置于 25°C 准确水浴 10min			
试剂三	20	20	20
混匀， 100°C 水浴 10min 左右（盖紧，防止水分散失），冷却至室温			
蒸馏水	140	140	140

混匀，540nm 蒸馏水调零，测定各管吸光值， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ，每个测定管设一个对照管。标准曲线的建立：以标准品的浓度为 x 轴，540nm 下的吸光度 ($\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$) 为 y 轴，绘制标准曲线。

三、蔗糖酶活力计算：

1、根据标准曲线，将 ΔA (y) 带入公式中计算出 x 值 (mg/mL)。

2、按照蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟催化水解 1 μg 蔗糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{蔗糖酶活力} (\mu\text{g}/\text{min}/\text{mg prot}) = (1000 \times x \times V1) \div (V1 \times C_{\text{pr}}) \div T = 100 \times x \div C_{\text{pr}}$$

3、按样本鲜重计算

4、单位定义：每 g 组织每分钟催化水解 1 μg 蔗糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{蔗糖酶活力} (\mu\text{g}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = (1000 \times x \times V1) \div (V1 \times W) \div T = 100 \times x \div W$$

1000: 1mg/mL=1000 μg/mL; V1: 加入反应体系中样本体积, 0.1mL; V2: 加入提取液体积, 1mL; T: 反应时间, 10min; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本鲜重, g。

