



蔗糖酶活性检测试剂盒

Sucrase Assay Kit

分光光度法

产品编号: AK431V

产品规格: 50T/24S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
ES431	30mL×1 瓶	4℃保存;
AK431-A	4mL×1 瓶	4℃保存;
AK431-B	粉剂×1 支	4℃保存, 用时加入2.5mL蒸馏水充分溶解; 剩余试剂4℃保存;
AK431-C	7mL×1 瓶	常温保存;
AK431-标准品	粉剂×1 支	用时加入 1 mL 蒸馏水充分溶解, 制备 10 mg/mL 葡萄糖标准溶液待用; 用不完的试剂 4℃保存一周。

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

意义: 蔗糖酶 (sucrase, 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。

原理: 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。

自备用品:

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

样本的前处理:

按照组织质量 (g): ES431 体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL ES431), 进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

测定步骤:

1. 分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 540nm, 蒸馏水调零。
2. 标准品的制备: 将标准品用蒸馏水稀释至 1.5、1、0.8、0.6、0.4、0.2、0mg/mL (0mg/mL 为空白管)。
3. 样本测定:

试剂名称	对照管 (μL)	测定管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
AK431-A	50	50	50	50
蒸馏水	50			100
标准溶液			100	
样本	100	100		
AK431-B		50	50	50
置于 25℃准确水浴 10min				
AK431-C	100	100	100	100
混匀, 100℃水浴 10min 左右 (盖紧, 防止水分散失), 冷却至室温				
蒸馏水	700	700	700	700

混匀, 540nm 蒸馏水调零, 测定各管吸光值, 分别记为 A 对照管, A 测定管, A 标准管, A 空白管。计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。每个测定管需设一个对照管 (标准曲线只需检测 1-2 次)。

蔗糖酶活力计算:

1. 标准曲线的绘制:

以标准液的浓度 (mg/mL) 为 x 轴, 对应的 ΔA 标准为 y 轴绘制标准曲线, 得到标准方程 $y = kx + b$, 将 ΔA 测定代入方程中计算得到样本浓度 (x, mg/mL)。

2. 蔗糖酶活力计算

(1) 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 μ g 蔗糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{蔗糖酶活力 (U/mg prot)} = [1000 \times x \times V_1] \div (V_1 \times \text{Cpr}) \div T = 100x \div \text{Cpr}$$

(2) 按样本鲜重计算

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

$$\text{蔗糖酶活力 (U/g 鲜重)} = [1000 \times x \times V_1] \div (W \times V_1 \div V_2) \div T = 100x \div W$$

注: 1000: 1mg/mL=1000 μ g/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。

※ 蛋白定量检测建议使用本公司: BCA Protein Assay Kit ([C05-02001](#))