



## 蔗糖酶活性检测试剂盒

### Sucrase Assay Kit

微量法

产品编号：AK431M

产品规格：100T/48S

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
ES431	100mL×1 瓶	4℃保存；
AK431-A	2mL×1 瓶	4℃保存；
AK431-B	粉剂×1 支	4℃保存，用时加入1mL蒸馏水充分溶解；剩余试剂4℃保存；
AK431-C	3mL×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/酶标仪、沸水浴、移液器、微量石英比色皿/96 孔板、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：

- 分光光度计或酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 520nm，蒸馏水调零。
- 标准品的制备：将标准品用蒸馏水稀释至 1.5、1.2、1、0.8、0.5、0.2、0mg/mL（0mg/mL 为空白管）。
- 样本测定，（在微量石英比色皿或 96 孔板中依次加入下列试剂）：

试剂名称	对照管（μL）	测定管（μL）	标准管（μL）	空白管（μL）
AK431-A	15	15	15	15
蒸馏水	15			30
标准溶液			30	
样本	30	30		
AK431-B		15	15	15
置于 25℃准确水浴 10min				
AK431-C	30	30	30	30
混匀，95℃水浴 5min 左右（盖紧，防止水分散失），冷却至室温				
蒸馏水	210	210	210	210

混匀，取 200 $\mu$ L 至微量石英比色皿或 96 孔板中测定各管 520nm 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）。每个测定管需要设一个对照管。

### 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  $\Delta A_{\text{标准}}$  为 y 轴绘制标准曲线，得到标准方程  $y = kx + b$ ，将  $\Delta A_{\text{测定}}$  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 $\mu$ g 蔗糖定义为一个酶活力单位。

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

##### (2) 按样本鲜重计算

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

$$\text{蔗糖酶活力 } (\mu\text{g}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = [1000 \times x \times V1] \div (W \times V1 \div V2) \div T = 100x \div W$$

**注：** 1000: 1mg/mL=1000 $\mu$ g/mL; V1: 加入反应体系中样本体积, 0.03mL; 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](#))