

组织及血液蔗糖酶活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AMHB4-C24	组织及血液蔗糖酶试剂盒	24T	常量法

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。

试剂组成:

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体30 mL×1 瓶	4℃保存
试剂一	液体4 mL×1 瓶	4℃保存
试剂二	粉剂×1瓶	4℃保存
试剂三	液体7 mL×1 瓶	常温保存
标准品	粉剂×1支	4℃保存

溶液的配制:

- 1、试剂二: 用时加入2.5 mL 蒸馏水充分溶解; 用不完的试剂4℃可保存一周;
- 2、标准品: 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。

操作步骤:

一、样本处理

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。

二、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、加样表:

试剂名称 (μL)	对照管	测定管	标准管
试剂一	50	50	50
蒸馏水	50		
样本	100	100	

标准品			100
试剂二		50	50
置于 25℃准确水浴 10min			
试剂三	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

混匀, 于 540nm 下测定各管吸光值, $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。(每个测定管需设一个对照管)

三、蔗糖酶活力计算

1. 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。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 μ g 蔗糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{蔗糖酶活力 (U/mg prot)} = (1000 \times x \times V1) \div (V1 \times Cpr) \div T = 100 \times x \div Cpr$$

3. 按照样本质量计算:

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。

$$\text{蔗糖酶活力 (U/g 质量)} = (1000 \times x \times V1) \div (W \div V2 \times V1) \div T = 100 \times x \div W$$

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: 样本质量, g。

注意事项:

当A 大于0.9 时, 建议将样本用提取液稀释后进行测定。