

蔗糖酶检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1167

保存：4℃避光保存 12 个月

规格：48T/96T

适用样本：动植物组织、细菌、真菌

产品简介

蔗糖酶（EC 3.2.1.26）是碳水化合物消化吸收的关键酶之一，特异地催化非还原糖中的 α -呋喃果糖苷键水解，具有相对专一性。不仅能催化蔗糖水解生成葡萄糖和果糖，也能催化棉子糖水解，生成密二糖和果糖。蔗糖酶广泛存在于动植物和微生物中，在植物的运输贮藏、碳水化合物代谢中发挥主要作用。并在渗透调节、抗逆性生长繁殖、以及信号传导方面也发挥着重要的作用。本试剂盒提供了一种检测蔗糖酶活性的便捷方法，其原理是蔗糖酶水解蔗糖生成还原糖，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 540nm 有特征吸收峰。在一定范围内酶活力大小与还原糖的量也就是反应液 540nm 吸光度成正比。测定 540nm 吸光度的变化可计算蔗糖酶活力。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃保存
试剂一	1mL	2mL	4℃保存
试剂二	粉剂×1 支	粉剂×1 支	4℃保存
试剂三	1.5mL	3mL	常温避光保存
标准品（10mg 葡萄糖）	粉剂×1 支	粉剂×1 支	4℃保存

自备耗材

酶标仪或可见光分光光度计（能测 540nm 处的吸光度）

水浴锅、制冰机、低温离心机

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

去离子水

匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

注意：各组分（小管试剂）开盖前，请先低速离心。

提取液：即用型；4℃保存。

试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂二：临用前 48T 加入 0.5mL 去离子水，96T 加入 1mL 去离子水充分溶解待用；用不完的试剂可 4℃保存一周或分装-20℃长期保存。

试剂三：即用型；常温避光保存，若有黄色晶体析出，需 90℃加热溶解后再用。

标准品：含 10 mg 无水葡萄糖，临用前加入 1mL 去离子水溶解得 10 mg/mL 标准品。溶解后的标准品可 4℃保存 1 个月或分装-20℃长期保存。

标准曲线设置：按下表所示，用去离子水将 10mg/mL 标准品稀释为 2、1、0.5、0.25、0.125、0.0625、0.0313mg/mL 的标准溶液。

产品说明书

	标准品体积 (μL)	去离子水体积 (μL)	标准品浓度 (mg/mL)
标准品 1	40μL 10mg/mL	160	2
标准品 2	100μL of 标准品 1 (2mg/mL)	100	1
标准品 3	100μL of 标准品 2 (1mg/mL)	100	0.5
标准品 4	100μL of 标准品 3 (0.5mg/mL)	100	0.25
标准品 5	100μL of 标准品 4 (0.25mg/mL)	100	0.125
标准品 6	100μL of 标准品 5 (0.125mg/mL)	100	0.0625
标准品 7	100μL of 标准品 6 (0.0625mg/mL)	100	0.0313

注意：每次实验，请使用新配制的标准品。

样本制备

动植物组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆，8,000g，4℃离心 10min，取上清液，置冰上待测。

细胞、细菌或真菌：收集 5×10^6 个细胞、细菌或真菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞、细菌或真菌，离心后弃上清，加入 1mL 提取液，超声波破碎细胞、细菌或真菌 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），8,000g，4℃离心 10min，取上清液，置冰上待测。

注意：建议使用新鲜样本。如果不立即使用，可将样品在 -80℃ 下保存一个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用 Bradford 蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

1. 酶标仪或可见光分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 540nm，可见光分光光度计去离子水调零。
2. 样本测定（在 EP 管中依次加入下列试剂）：

试剂 (μL)	测定管	对照管	标准管	空白管
试剂一	15	15	15	15
去离子水	0	15	0	30
样本	30	30	0	0
标准品	0	0	30	0
试剂二	15	0	15	15

混匀，25℃准确水浴 10min

试剂三	30	30	30	30
沸水浴中煮沸 10min 左右（盖紧，以防止水分散失），冷却至室温				
去离子水	210	210	210	210

混匀，取 200 μL 至 96 孔板或微量玻璃比色皿中，540nm 下测定各管吸光值。标准曲线和空白管只要测定一次。每个测定管需要设一个对照管。空白孔记为 $A_{空}$ ，标准孔记为 $A_{标}$ ，测定孔记为 $A_{测}$ ，对照孔记为 $A_{对}$ 。计算 $\Delta A_{测} = A_{测} - A_{对}$ ， $\Delta A_{标} = A_{标} - A_{空}$

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果 $\Delta A_{测}$ 小于 0.01 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{测}$ 大于 1.2 或者 $A_{测}$ 大于 2.0，样本可用提取液进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。

结果计算

1. 标准曲线的绘制：

以标准溶液浓度为 y 轴， $\Delta A_{标}$ 为 x 轴，绘制标准曲线（浓度为 y 轴更方便计算结果）。

将 $\Delta A_{测}$ 带入方程得到 y (mg/mL)。

产品说明书

2. 蔗糖酶活性计算

(1) 按照样本鲜重计算

单位定义：每 g 组织在反应体系中每分钟催化蔗糖水解生成 1 μ g 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

蔗糖酶 (U/g 质量) = $y \times V_{\text{反总}} \times 10^3 \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 200y \div W$

(2) 按细胞、细菌或真菌数量计算

单位定义：每 1 万个细胞、细菌或真菌在反应体系中每分钟催化蔗糖水解生成 1 μ g 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

蔗糖酶 (U/10⁴cells) = $y \times V_{\text{反总}} \times 10^3 \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times 500) \div T = 0.4y$

(3) 按照蛋白浓度计算

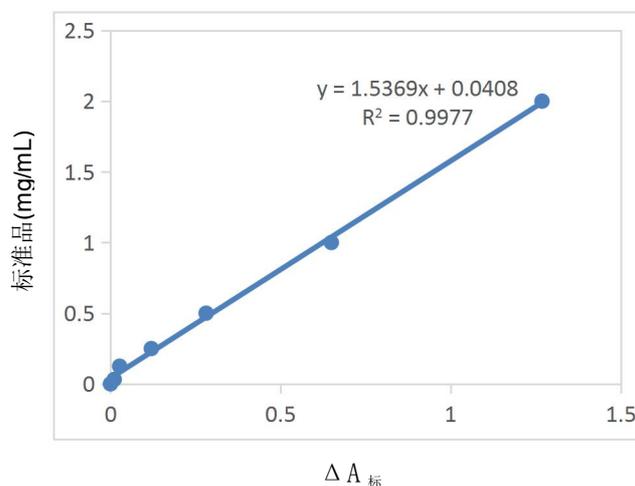
单位定义：每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟催化蔗糖水解生成 1 μ g 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

蔗糖酶 (U/mg prot) = $y \times V_{\text{反总}} \times 10^3 \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 200y \div \text{Cpr}$

$V_{\text{反总}}$ ：反应总体积，0.06mL； $V_{\text{样}}$ ：加入反应体系中样本体积，0.03mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL；10³：单位换算系数，1mg=10³ μ g；W：样本鲜重，g；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；T：反应时间：10min；500：细胞、细菌或真菌数量，500 万。

结果展示

典型标准曲线



注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

PMK1164 葡萄糖检测试剂盒（微量法）

PMK1165 果糖检测试剂盒（微量法）

PMK1166 蔗糖检测试剂盒（微量法）

PMK1168 蔗糖合成酶（分解方向 SS-I）检测试剂盒（微量法）

PMK1169 蔗糖合成酶（合成方向 SS-II）检测试剂盒（微量法）

PMK1170 蔗糖磷酸合成酶（SPS）检测试剂盒（微量法）

更多产品详情了解，请关注公众号：

