

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

蔗糖酶测定试剂盒 Sucrase Assay Kit

产品货号: BC00084

产品规格: 50T/100T

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们:

✉ 邮箱 (销售) order@enkilife.cn

✉ 邮箱 (技术支持) tech@enkilife.cn

☎ 公司电话 027-87002838

🌐 网址 www.enkilife.cn



订阅微信公众号
获取更多技术
信息及前沿动态

保质期: 请见试剂盒外包装标签。

技术支持: 为了更好地给您提供服务, 联系时请告知产品外包装标签上批号。

基本信息

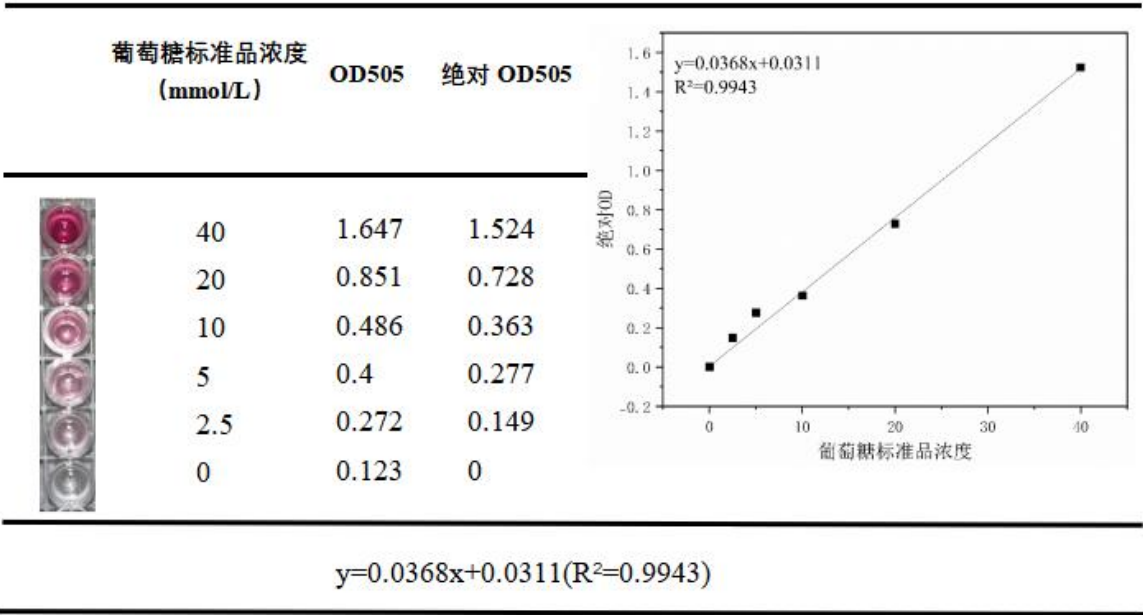
产品中文名称	蔗糖酶测定试剂盒
产品英文名称	Sucrase Assay Kit
检测方法	Colorimetric
样品类型	组织、血清、血浆
检测类型	Quantitative
检测仪器及波长	酶标仪（500-520nm，最佳检测波长为 505nm）

产品简介

蔗糖酶作用于其底物(蔗糖)生成葡萄糖，葡萄糖在葡萄糖氧化酶的作用下产生过氧化氢，过氧化氢同显色剂反应产生红色产物，在 505 nm 波长处有强烈吸收峰。在一定浓度范围内，其吸光度与葡萄糖浓度呈线性关系。因此，通过测定 505nm 处吸光度，可计算葡萄糖生成量，进而计算出蔗糖酶活力。

本试剂盒检测组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 EnkiLife 生产的蛋白浓度测定试剂盒(BCA 法)(BC00006)。

下图展示了本试剂盒测定蔗糖酶的标准曲线：



产品组分

编号	产品名称	包装规格 (50T)	包装规格 (100T)	保存方式
试剂一	底物	粉剂 x1 瓶	粉剂 x1 瓶	-20℃，开瓶后 2-8℃保存。
试剂二	缓冲液	10 mL	10 mL	-20℃，开瓶后 2-8℃保存。
试剂三	酶溶液	6 mL	12 mL	-20℃，避光，开瓶后 2-8℃避光保存。
试剂四	酚溶液	6 mL	12 mL	-20℃，避光，开瓶后 2-8℃避光保存。
试剂五	终止剂	3 mL	6 mL	-20℃，开瓶后 2-8℃保存。
试剂六	50mmol/L 葡萄糖 标准品	1 mL	1 mL	-20℃，开瓶后 2-8℃保存。
耗材一	96 孔酶标板	1 板	1 板	RT
耗材二	96 孔覆膜	2 张	2 张	RT

保存条件

未拆封的试剂盒可在 -20℃保存 6 个月。

实验前准备

• 样品处理

1. 组织样本：取 0.05-1.00 g 新鲜组织块，用 2-8℃ 的 PBS(0.01 mol/L,pH7.4) 漂洗，去除血液，滤纸吸干，称重，放入匀浆容器中，按照重量(g)：体积(mL)=1: 4 的比例加入 2-8℃的 PBS(0.01mol/L, pH 7.4)匀浆。4℃下 10000×g 离心 10min，取上清液置于冰上待测。若不能当天检测，组织样本置于-80℃环境下可保存一个月。
2. 样本的稀释：在正式检测前，需选择 2-3 个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：20-2000 U/mL，进行一定倍数的稀释。

• 试剂盒的准备工作

1. 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温。
2. 试剂一工作液配制：取 8mL 试剂二加入试剂一瓶中，震荡至试剂一全部溶解均匀，未使用完的试剂可在 2-8℃保存 7 天。
3. 显色液配制：将试剂三与试剂四按照 1:1 比例混合均匀，按需配制，现配现用。

不同浓度标准品的稀释：

标准品浓度(mmol/L)	0	2.5	5	10	20	40
50mmol/L 标准品(μL)	0	5	10	20	40	80
双蒸水(μL)	100	95	90	80	60	20

操作流程

1. 标准管：取 25μl 不同浓度标准品，分别加入到 1.5 mL EP 管中；
测定管：取 25 μL 待测样本，加入到 1.5 mL EP 管中；
对照管：取 50μl 试剂一工作液，加入到 1.5 mL EP 管中。
2. 向(1)步骤中标准管、测定管加入 50 μL 试剂一。
3. 混匀，37℃ 孵育 10 min。
4. 向步骤(3)的各管中加入 25μl 试剂五，混匀。
5. 向步骤(4)对照管中加入 25μl 待测样本。
6. 混匀，4300rpm 离心 10 min，管分别取 8μl 上清液，加入到酶标板各对应孔中。
7. 向步骤(6)各孔中加入 200μl 显色液。
8. 酶标仪上振板 10 s，37℃ 孵育 15min，酶标仪 505 nm 测定各孔 OD 值。

	标准孔	测定孔	对照孔
不同浓度的标准品溶液(μL)	25	--	--
待测样本(μL)	--	25	--
试剂一(μL)	50	50	50
混匀, 37°C 水浴 20 min			
试剂五(μL)	25	25	25
待测样本(μL)	--	--	25
混匀, 4300rpm 离心 10 min, 取上清液加入酶标板			
上清液(μL)	8	8	8
显色液(μL)	200	200	200
酶标仪上振板 10 s, 37°C 孵育 15 min, 酶标仪 505 nm 测定各孔 OD 值。			

结果计算

标准品拟合曲线: $y = ax + b$

定义: 37°C 条件下, 每毫克组织蛋白每分钟水解 1 nmol 蔗糖的酶量为一个活力单位。

$$\text{蔗糖酶活力 (U/mgprot)} = \frac{\Delta A - b}{a} \div T \times 1000^* \times f \div C_{Pr}$$

注解:

y: 标准孔 OD 值-空白孔 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x: 标准品的浓度

a: 标曲的斜率

b: 标曲的截距

ΔA: 测定孔 OD 值-对照孔 OD 值

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

C_{pr}: 待测样本的蛋白浓度(mg/mL)

T: 酶促反应时间(20 min)

1000*: 单位换算 1 μmol = 1000 nmol

注意事项

1. 酶标仪最佳检测波长为 505 nm, 480 nm-520 nm 范围内检测均可。
2. 可以适当延长水浴时间, 结果计算时也要除去实际水浴时间。
3. 加样过程注意混合均匀, 以防对检测结果造成影响。注意控制酶促反应的时间, 配制显色液时注意避免试剂四的污染。
4. 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。