

## 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
AMHC7-M48	蔗糖酶活性检测试剂盒	48T	微量法
AMHC7-M96		96T	

### 一、测定意义：

蔗糖酶测定在临床与科研中具有重要意义。蔗糖酶活性检测可直观反映肠道黏膜上皮细胞的消化功能状态，对慢性腹泻、吸收不良综合征等肠道疾病的病因分析、病情评估及治疗方案调整提供关键依据；蔗糖酶活性测定则有助于监测全身性糖代谢紊乱，辅助诊断内分泌疾病或肠道疾病引发的代谢异常，通过动态观察酶活性变化，为疾病的早期发现、疗效评价及预后判断提供重要参考，助力临床精准诊疗。

### 二、测定原理：

蔗糖酶可催化蔗糖降解产生还原糖，进一步与 3,5-二硝基水杨酸反应，生成棕红色氨基化合物，产物在 540 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值的变化速率即可表征蔗糖酶的活性。

### 三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量 (48T)	试剂装量 (96T)	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 110mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂一	液体 12mL×1 瓶	液体 24mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂二	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	-20℃保存
<b>试剂二的配制：</b> 用时每瓶粉剂加入蒸馏水 10mL，混匀充分溶解，现用现配。			
试剂三	液体 23mL×1 瓶	液体 46mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂四	液体 23mL×1 瓶	液体 46mL×1 瓶	2~8℃保存
标准品(10mg)	粉剂×1 支	粉剂×2 支	2~8℃保存
<b>标准品的配制：</b> 用时每支粉剂加入蒸馏水 1mL，混匀充分溶解，现用现配。			

### 四、操作步骤：

#### 样本前处理

- 组织：按照组织质量 (g) : 提取液(mL) 为 1:10 的比例 (建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液) 进行冰浴匀浆。5000 rpm, 4℃ 离心 10 min, 取上清置冰上待测；
- 细菌/细胞：按照细胞数量 (10<sup>4</sup> 个) : 提取液体积 (mL) 为 500~1000:1 的比例 (建议 500 万细胞加入 1mL 提取液)，冰浴超声波破碎细胞 (功率 200W, 超声 3 秒, 间隔 7 秒, 总时间 5min)；然后 10000g, 4℃ 离心 10min, 取上清置于冰上待测；
- 血清 (浆) 等液体样本：直接测定。若有浑浊请离心后取上清待测。

#### 测定步骤

- 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 540nm，蒸馏水调零。
- 试剂回复至常温；
- 将 10mg/mL 的标准品用蒸馏水稀释成 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1mg/mL，备用；
- 操作表** (在离心管中加入以下试剂)：

试剂名称	测定管	对照管	空白管	标准管
样品 (μL)	25	25	-	-
蒸馏水 (μL)	-	-	25	-
不同浓度标准品(μL)	-	-	-	25
试剂一 (μL)	100	100	100	100
试剂二 (μL)	25	25	25	25
试剂三 (μL)	-	200	-	-
混匀，37℃孵育 30min。				
试剂三 (μL)	200	-	200	200
试剂四 (μL)	200	200	200	200
混匀，100℃沸水煮 5min，冷却至室温，于波长 540nm 测定各管吸光度，分别记为 A <sub>测定</sub> ，A <sub>对照</sub> ，A <sub>空白</sub> ，A <sub>标准</sub> ，计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{对照}$ ， $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白}$ 。注意：每个样本需设一个对照，空白管和				

标准管只需做 1-2 个。

## 五、蔗糖酶活性计算：

1、标准曲线绘制：以吸光度值为横坐标，标准品浓度为纵坐标，绘制标准曲线  $y = kx + b$ ,  $x$  为吸光度值,  $y$  为标准品浓度浓度 (mg/mL)。

根据标准曲线，将  $\Delta A$  带入公式计算出样本浓度 ( $y$ , mg/mL)；

## 2、血清样本蔗糖酶计算

**单位定义：**每 mL 血清（浆）每小时催化水解 1 $\mu$ g 蔗糖定义为一个酶活力单位。

**计算公式：**蔗糖酶 (U/mL) =  $[1000 \times y \times V_{\#}] \div V_{\#} \div T = 200 \times y$

## 3、组织、细胞样本蔗糖酶计算

### (1) 按样本质量计算：

**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。

**计算公式：**蔗糖酶 (U/g) =  $[1000 \times y \times V_{\#}] \div (W \times V_{\#} \div V_{\#} \div V_{\#}) \div T = 200 \times y \div W$

### (2) 按蛋白浓度计算：

**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。

**计算公式：**蔗糖酶 (U/mg prot) =  $[1000 \times y \times V_{\#}] \div (V_{\#} \times Cpr) \div T = 200 \times y \div Cpr$

### (3) 按照细菌或细胞数量计算：

**单位定义：**每 1 万个细菌或细胞每小时催化水解 1 $\mu$ g 蔗糖定义为一个酶活力单位。

**计算公式：**蔗糖酶 (U/ $10^4$  cell) =  $[1000 \times y \times V_{\#}] \div (500 \times V_{\#} \div V_{\#} \div T) = 0.4 \times y$

$V_{\#}$ : 加入提取液总体积, 1mL;  $V_{\#}$ : 加入样本体积, 25 $\mu$ L=0.025mL;

$T$ : 反应时间, 5min; 1000: 1mg/mL=1000 $\mu$ g/mL;  $Cpr$ : 样本蛋白浓度, mg/mL;  $W$ : 样本质量, g; 500: 细胞数量, 500 万。

## 六、注意事项：

实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

## 【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

## 【售后微信】



## 【说明书核准及修改日期】

核准日期：2025 年 4 月 7 日

修改日期：2025 年 4 月 7 日