

CheKine™ 蔗糖酶活性检测试剂盒（微量法）

货号: KTB3150

规格: 48 T/24 S

96 T/48 S

批号: 见产品标签

	适用样本: 植物组织
	保质期: 4℃, 避光保存 6 个月

01 背景与原理

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。

本试剂盒检测原理是 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。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Extraction Buffer	60 mL	120 mL	4℃
Reagent I	1.2 mL	2.4 mL	4℃
Reagent II	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃
Reagent III	2.4 mL	4.8 mL	4℃, 避光保存
Standard	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃

*请在实验前检查各组分的量。

*各组分在规格基础上额外提供 10%的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 520 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	去离子水	稀释标准品、检测用
其他	匀浆器、低温离心机、恒温水浴锅、可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有助于提高实验效率

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。
- 对于组织样本，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3002 的蛋白质定量试剂盒（Bradford 法）。
- 该试剂盒提取的样本也可以适用于 KTB3130、KTB3140、KTB3110 的测定。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 建议实验者自行建立标准曲线以提高结果准确度。如未自行建立标准曲线，可参考结果展示部分的典型标准曲线公式进行结果计算。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

05-1-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Extraction Buffer	即用型；使用前，平衡到室温	4℃保存；有刺激性气味，建议在通风橱进行实验
Reagent I	即用型；使用前，平衡到室温	4℃保存；有刺激性气味，建议在通风橱进行实验
Working Reagent II	临用前配制；48 T 加入 1 mL 去离子水，96 T 加入 2 mL 去离子水，充分溶解待用	未用完的试剂 4℃分装保存 1 周
Reagent III	即用型；使用前，平衡到室温	4℃避光保存；有毒且有刺激性气味，建议在通风橱进行实验
10 mg/mL Standard	临用前配制；加入 1 mL 去离子水溶解，配成 10 mg/mL 葡萄糖溶液备用	未用完的试剂 4℃保存 2 周

05-1-2 标准品配制

使用 10 mg/mL 葡萄糖溶液标准品，按照下表所示，进一步稀释标准品。每次实验都要做一次标准品检测，制作标曲；稀释后的标准品溶液不稳定，必须在 4 小时内使用。

序号	10 mg/mL 标准品 (μL)	去离子水 (μL)	浓度 (mg/mL)
1	100	400	2
2	75	425	1.5
3	50	450	1
4	40	460	0.8
5	30	470	0.6
6	20	480	0.4
7	10	490	0.2
空白	0	500	0

05-2 样本制备

注意：推荐使用新鲜样本。样本尽量新鲜提取，如果不能当天提取，则把分装的组织块保存在-80℃，一个月内使用。当准备好进行该项实验时，将样本从-80℃拿出后，冰上解冻。但是请注意，这可能会影响样本的稳定性，实验结果可能会低于预期。

- 植物组织：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Extraction Buffer，进行冰浴匀浆，8000 g，4℃离心 10 min，取上清，置冰上待测。

05-3 实验步骤

1. 酶标仪准备：预热 30 min 以上，调节波长到 520 nm。
2. 检测体系配制：在 1.5 mL EP 管中按照如下方式操作，空白管和标准曲线只需做 1-2 次，每个测定管均需设置一个对照管。

试剂	对照管 (μL)	测定管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
Reagent I	15	15	15	15
去离子水	15	0	0	30
样本	30	30	0	0
Standard	0	0	30	0
Working Reagent II	0	15	15	15
混匀，置于 25℃准确水浴 10 min				
Reagent III	30	30	30	30
混匀，置于 95℃水浴 10 min（盖紧，以防止水分散失），冷却至室温（若要检测多个样本，需保证冷却时间一致）				
去离子水	210	210	210	210

3. 吸光度检测：混匀，取 200 μL 上清于 96 孔板中，记录 520 nm 处吸光值。对照管记为 A_{对照}，测定管记为 A_{测定}，标准管记为 A_{标准}，空白管记为 A_{空白}。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网[\[https://www.abbkine.cn\]](https://www.abbkine.cn)>进入“技术中心”>查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$

2. 标准曲线绘制

以标准品浓度为 y 轴， $\Delta A_{\text{标准}}$ 为 x 轴，绘制标准曲线。将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 代入方程得到 y 值 (mg/mL)。

3. 蔗糖酶活力的计算：

● 按样本鲜重计算：

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

蔗糖酶(U/g) = $(1000 \times y \times V_{\text{样}}) \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 100 \times y \div W$

● 按蛋白浓度计算

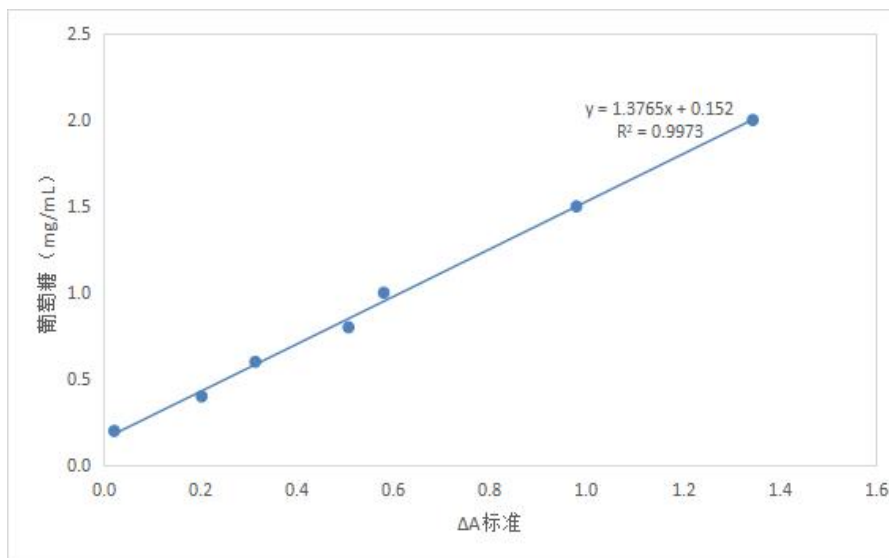
酶活单位定义：每 mg 蛋白每分钟催化水解 1 μg 蔗糖定义为一个酶活力单位。

蔗糖酶(U/mg prot) = $(1000 \times y \times V_{\text{样}}) \div (Cpr \times V_{\text{样}}) \div T = 100 \times y \div Cpr$

1000: 1 mg/mL = 1000 $\mu\text{g/mL}$; $V_{\text{样}}$: 加入反应体系中样本体积, 0.03 mL; $V_{\text{样总}}$: 加入 Extraction Buffer 体积, 1 mL; T: 反应时间, 10 min; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本鲜重, g。

07 结果展示

典型标准曲线: $y = 1.3765x + 0.152$, $R^2 = 0.9973$



示例-1: 取 0.129 g 番茄叶片，按照测定步骤操作，用 96 孔板测得 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} = 0.237 - 0.175 = 0.062$ ，代入方程得 $y = 0.237$ ，按样本鲜重计算得：蔗糖酶(U/g) = $100 \times y \div W = 183.7$ U/g。

08 FAQ

● 检测得到的样本 $\Delta A_{\text{测定}}$ 过高或者过低怎么办？

如果样本的 $\Delta A_{\text{测定}}$ 高于 2 mg/mL 标准品的 $\Delta A_{\text{标准}}$ ，样本需用 Extraction Buffer 适当稀释，再重新测定，或减少提取用样本量。如果样本的 $\Delta A_{\text{测定}}$ 低于 0.2 mg/mL 标准品的 $\Delta A_{\text{标准}}$ ，可适当提高样本量。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB1015	CheKine™ α -葡萄糖苷酶活性检测试剂盒（微量法）
KTB1121	CheKine™ 丙酮酸（PA）含量检测试剂盒（微量法）

CheKine™ 蔗糖酶活性检测流程示意图

(Abbkin 货号：KTB3150)

样本处理



植物组织

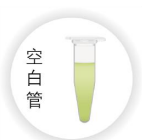
1 mL Extraction Buffer, 冰浴匀浆



8000 g, 4°C 离心 10 min, 取上清



体系配置



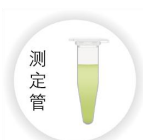
空白管

Reagent I 15 μ L
去离子水 30 μ L
Working Reagent II 15 μ L



对照管

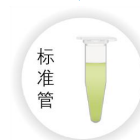
Reagent I 15 μ L
去离子水 15 μ L
样本 30 μ L



测定管

Reagent I 15 μ L
样本 30 μ L
Working Reagent II 15 μ L

标准品配制

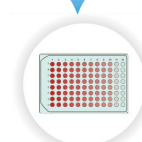


标准管

Reagent I 15 μ L
Standard 30 μ L
Working Reagent II 15 μ L

混匀, 置于25°C准确水浴10 min
每管加入Reagent III 30 μ L
混匀, 置于95°C水浴10 min, 冷却至室温
(若要检测多个样本, 需保证冷却时间一致)
每管加入去离子水 210 μ L
混匀, 取200 μ L至96孔板中

数据检测



测定520 nm处吸光度, 结果计算