

## 植物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
PMHF1-C24	植物蔗糖酶活性检测试剂盒	24T	常量法
PMHF1-C48		48T	

### 一、测定意义：

蔗糖酶在植物代谢中起关键作用，负责将蔗糖分解为葡萄糖和果糖，为植物提供能量和碳源。测定其活性有助于了解植物的代谢状态及能量利用效率。植物蔗糖酶测定在代谢研究、生长发育评估、逆境响应、品质改良、生理机制研究及农业生产中具有重要意义，为植物生物学研究和农业生产提供了关键数据支持。

### 二、测定原理：

酸性转化酶催化蔗糖分解生成葡萄糖和果糖，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，通过吸光值的变化即可表征酸性转化酶的活性。

### 三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(24T)	试剂装量(48T)	保存条件
提取液	液体 30mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 15mL×1 瓶	液体 30mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂×1 支	粉剂×2 支	2-8℃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 27mL×1 瓶	液体 54mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四	液体 27mL×1 瓶	液体 54mL×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

取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，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)，旋涡混匀抽提 3-5 分钟或者使用组织破碎仪冰浴提取，8000g, 4℃离心 10min，取上清液置冰上待测。

#### 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. 测定前将试剂恢复至常温；
3. 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；
4. 操作表（在离心管中加入下列试剂）：

试剂名称	测定管	对照管	标准管	空白管
样品 (μL)	50	50	-	-
蒸馏水 (μL)	-	-	-	50
不同浓度标准液 (μL)	-	-	50	-
试剂一 (μL)	200	200	200	200
试剂二 (μL)	50	50	50	50
试剂三 (μL)	-	400	-	-
混匀，37℃孵育 30min。				
试剂三 (μL)	400	-	400	400
试剂二 (μL)	400	400	400	400
混匀，100℃沸水煮 5min，冷却至室温，取 1mL 于石英比色皿中，在 540nm 波长，空白管调零，读取各管吸光度，分别记为 A <sub>测定</sub> ，A <sub>对照</sub> ，A <sub>标准</sub> ，A <sub>空白</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：标准管和空白管只需做 1-2 次。				

#### 五、植物蔗糖酶活性计算：

1. 标准曲线的绘制：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(μg/mL)。

根据标准曲线，将  $\Delta A_{测定}$  带入公式计算出样本浓度 (y, μg/mL)。

- 2、按样本鲜重计算：

单位定义：每 g 组织每分钟催化水解 1μg 蔗糖定义为一个酶活力单位。

蔗糖酶 (U/g 鲜重) =  $[1000 \times y \times V_{\text{样}}] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = y \times 200 \div W$

### 3、按样本蛋白浓度计算：

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

蔗糖酶 (U/mg prot) =  $[1000 \times y \times V_{\text{样}}] \div (V_{\text{样}} \times Cpr) \div T = y \times 200 \div Cpr$

1000: 1mg/mL=1000μg/mL;  $V_{\text{样}}$ : 加入反应液中的样本体积, 0.05mL;

$V_{\text{样总}}$ : 加入提取液体积, 1mL; T: 反应时间, 5min; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; W: 样本质量, g。

### 六、注意事项：

1、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；

2、为保证结果准确且避免试剂损失, 测定前请仔细阅读说明书（以

实际收到说明书内容为准）, 确认试剂储存和准备是否充分, 操作

步骤是否清楚, 且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定。

### 【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