

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--M48	植物蔗糖酶活性检测试剂 盒	48T	微量法
PMHF1--M96		96T	

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(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 支	粉剂×2 支	2-8℃保存
试剂二的配制： 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
标准品的配制： 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. 酶标仪预热 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）	25	25	-	-
蒸馏水（μL）	-	-	-	25
不同浓度标准液（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
试剂二（μL）	200	200	200	200
混匀，100℃沸水煮 5min，冷却至室温，取 200μL 于 96 孔板中，在 540nm 波长，空白管调零，读取各管吸光度，分别记为 $A_{\text{测定}}$ ， $A_{\text{对照}}$ ， $A_{\text{标准}}$ ， $A_{\text{空白}}$ ，计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ； $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。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（μg/mL）。根据标准曲线，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 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) = $[1000 \times y \times V_{\text{样}}] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = y \times 100 \div W$

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 1 μ g 蔗糖定义为一个酶活力单位。

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

1000: 1mg/mL=1000 μ g/mL; $V_{\text{样}}$: 加入反应液中的样本体积, 0.025mL;

$V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL; T: 反应时间, 5min; Cpr: 样本蛋白质浓度, 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