

## 植物蔗糖酸性转化酶（AI）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 |
|-----------|---------------------------|------|------|
| PYHC2-M48 | 植物蔗糖酸性转化酶<br>(AI) 活性检测试剂盒 | 48T  | 微量法  |
| PYHC2-M96 |                           | 96T  |      |

### 一、测定意义：

酸性转化酶在植物生长发育及响应环境胁迫中具有关键作用，测定其活性有助于了解果实糖分积累与品质形成机制，为优化栽培措施、提升果实品质提供依据；同时，在植物对干旱、盐碱等逆境响应研究中，测定酸性转化酶能明晰植物适应策略，助力培育抗逆作物品种，对农业生产意义重大。

### 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 瓶     | 粉剂 ×2 瓶      | 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                                  | 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）处理样品，室温研磨至匀浆，4℃ 10000 g 离心 10 min，取上清即为粗酶液，置于冰上待测。

### 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、测定前将工作液平衡至常温；
- 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、样本测定（在离心管中依次加入下列试剂）：

| 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，取 200μL 于 96 孔板中在波长 540nm 处测定各管吸光度，记为 $A_{\text{测定}}$ ， $A_{\text{对照}}$ ， $A_{\text{空白}}$ ， $A_{\text{标准}}$ ，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：每个测定管需要设一个对照管，空白管和标准管只需测 1-2 次。 |     |     |     |     |

### 五、植物蔗糖酸性转化酶（AI）活性测定：

- 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（mg/mL）。根据标准曲线，将  $\Delta A_{\text{测定}}$  带入公式计算出样本浓度（ $y$ ，mg/mL）；
- 2、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 $\mu$ g 蔗糖定义为一个酶活力单位。

**计算公式：**AI (nmol/min/mg prot) =  $[1000 \times y \times V_{\text{样}}] \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr})$   
 $\div T = y \times 33.3 \div \text{Cpr}$

### 3、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：**AI (nmol/min/g 鲜重) =  $[1000 \times y \times V_{\text{样}}] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}})$   
 $\div T = y \times 33.3 \div W$

1000: 1mg/mL=1000 $\mu$ 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, 30min; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, g。

## 六、 注意事项：

- 1、样本测试前请选取 2 个预期差异最大的样本，稀释成不同浓度进行预试，以选取最佳取样浓度；
- 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，过程中问题请您及时与工作人员联系。

## 【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