

细胞壁不溶性酸性转化酶 (B-AI) 检测试剂盒 (微量法)

正式测定前务必取2-3个预期差异较大的样本做预测定

产品货号: BA1432

产品规格: 100管/48样

产品简介:

蔗糖转化酶 (Invertase, Ivr) 催化蔗糖不可逆地分解为果糖和葡萄糖, 是高等植物蔗糖代谢关键酶之一。根据最适pH, Ivr分为酸性转化酶 (AI) 和中性转化酶 (NI) 两种类型。AI的最适pH为3~5。

AI分为可溶性AI(S-AI)和细胞壁不溶性AI (B-AI) 两种类型。B-AI存在于细胞间隙并结合在细胞壁上, 主要参与韧皮部质外体卸载时蔗糖的分解, 以维持库源之间蔗糖的浓度。

B-AI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, 在510nm有特征光吸收, 在一定范围内510nm光吸收增加速率与B-AI活性成正比。

产品组成:

提取液1: 液体100mL×1瓶, 4℃保存;

提取液2: 液体100mL×1瓶, 4℃保存;

试剂一: 液体20mL×1瓶, 4℃保存;

试剂二: 粉剂×1瓶, 4℃保存; 临用前加入10mL试剂一充分溶解备用; 用不完的试剂4℃保存;

试剂三: 液体15mL×1瓶, 4℃避光保存。

需自备的仪器和用品:

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、微量石英比色皿/96孔板、研钵、冰和蒸馏水。

操作步骤:

一、粗酶液提取:

按照组织质量 (g): 提取液1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1), 进行冰浴匀浆。12000g 4℃离心10min, 弃上清, 沉淀中加入1mL蒸馏水, 充分震荡混匀, 12000g 4℃离心10min, 弃上清, 沉淀中加入1mL提取液2充分混匀, 4℃浸提过夜, 12000g 4℃离心20min, 取上清置冰上待测。

二、测定步骤和加样表:

1. 分光光度计或酶标仪预热30min以上, 调节波长至510nm, 蒸馏水调零。
2. 样本测定, (在EP管中依次加入下列试剂):

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
样本	50	50
试剂一		200
试剂二	200	
混匀, 37℃准确水浴30min后, 95℃水浴10min (盖紧, 以防水分散失), 流水冷却后充分混匀 (以保证浓度不变)		
试剂三	125	125

混匀, 95℃水浴10min (盖紧, 以防止水分散失), 流水冷却后充分混匀, 取200μL至微量石英比色皿或96孔板中, 510nm处记录各管吸光值A, 如果吸光值大于2, 可以用蒸馏水稀释后测定 (计算公式中乘以相应稀释倍



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

数), $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。每个测定管设一个对照管。

三、B-AI 活性计算

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

标准条件下测定的回归方程为 $y = 0.0016x - 0.001$; x 为标准品浓度 ($\mu\text{g/mL}$), y 为吸光值。

(1) 按蛋白浓度计算:

单位的定义: 37°C 每 mg 蛋白每分钟产生 $1\mu\text{g}$ 还原糖定义为一个酶活性单位。

$$\text{B-AI 活性 } (\mu\text{g}/\text{min}/\text{mg prot}) = [(\Delta A + 0.001) \div 0.0016 \times V1] \div (V1 \times \text{Cpr}) \div T = 20.8 \times (\Delta A + 0.001) \div \text{Cpr}$$

(2) 按鲜重计算:

单位的定义: 37°C 每 g 组织每分钟产生 $1\mu\text{g}$ 还原糖定义为一个酶活性单位。

$$\text{B-AI 活性 } (\mu\text{g}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = [(\Delta A + 0.001) \div 0.0016 \times V1] \div (W \times V1 \div V2) \div T = 20.8 \times (\Delta A + 0.001) \div W$$

$V1$: 加入反应体系中样本体积, 0.05mL ; $V2$: 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 : 样本鲜重, g 。

b. 用96孔板测定的计算公式如下

标准条件下测定的回归方程为 $y = 0.0008x - 0.001$; x 为标准品浓度 ($\mu\text{g/mL}$), y 为吸光值。

(1) 按蛋白浓度计算:

单位的定义: 37°C 每 mg 蛋白每分钟产生 $1\mu\text{g}$ 还原糖定义为一个酶活性单位。

$$\text{B-AI 活性 } (\mu\text{g}/\text{min}/\text{mg prot}) = [(\Delta A + 0.001) \div 0.0008 \times V1] \div (V1 \times \text{Cpr}) \div T = 41.6 \times (\Delta A + 0.001) \div \text{Cpr}$$

(2) 按鲜重计算:

单位的定义: 37°C 每 g 组织每分钟产生 $1\mu\text{g}$ 还原糖定义为一个酶活性单位。

$$\text{B-AI 活性 } (\mu\text{g}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = [(\Delta A + 0.001) \div 0.0008 \times V1] \div (W \times V1 \div V2) = 41.6 \times (\Delta A + 0.001) \div W$$

$V1$: 加入反应体系中样本体积, 0.05mL ; $V2$: 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 : 样本鲜重, g 。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com