

细胞壁不溶性酸性转化酶 (B-AI) 检测试剂盒

(可见分光光度法)

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: BA1431

产品规格: 50管/24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50mL×1瓶, 4℃保存;

提取液2: 液体50mL×1瓶, 4℃保存;

试剂一: 液体50mL×1瓶, 4℃保存;

试剂二: 粉剂×1瓶, 4℃保存; 临用前加入25mL试剂一充分溶解备用; 用不完的试剂4℃保存;

试剂三: 液体30mL×1瓶, 4℃避光保存。

需自备的仪器和用品:

可见分光光度计、台式离心机、水浴锅、移液器、1mL玻璃比色皿、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:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
样本	200	200
试剂一		800
试剂二	800	
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	500	500

混匀, 95℃水浴10min (盖紧, 以防止水分散失), 流水冷却后充分混匀, 510nm处, 蒸馏水调零, 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数), $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。

三、B-AI 活性计算:



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

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℃每mg蛋白每分钟产生1 μg 还原糖定义为一个酶活性单位。

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

（2）按鲜重计算：

单位的定义：37℃每g组织每分钟产生1 μg 还原糖定义为一个酶活性单位。

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

V1：加入反应体系中样本体积，0.2mL；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

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com