

## 可溶性酸性转化酶 (S-AI) 试剂盒 (微量法)

注意：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：BA1182

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。S-AI主要存在于细胞液泡或自由空间中，最适pH为 4.5~5.0 (酸性)，通过降解液泡中蔗糖，调节液泡中蔗糖的利用和果实内糖类的积累。

S-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S-AI活性成正比。

### 产品内容：

提取液：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℃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)，进行冰浴匀浆。12000g 4℃离心10min，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数)，		



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

$\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。每个测定管需设一个对照管。

### 三、S-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。

S-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°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。

S-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，0.05mL；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。

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

(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。

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

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