



中性转化酶活性检测试剂盒

NI Assay Kit

分光光度法

产品编号: AK433V

产品规格: 50T/24S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
ES433	50mL×1 瓶	4℃保存;
AK433-A	50mL×1 瓶	4℃保存;
AK433-B	粉剂×1 瓶	4℃保存; 临用前加入25mL AK433-A充分溶解备用; 剩余试剂4℃保存;
AK433-C	30mL×1 瓶	4℃保存;
AK433-标准品	粉剂×1 支	用时加入 1 mL 蒸馏水充分溶解, 制备 10 mg/mL 葡萄糖标准溶液待用; 用不完的试剂 4℃保存一周。

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

意义: 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, 将高等植物蔗糖转化酶分为酸性转化酶 (Acid invertase, AI) 和中性转化酶 (Neutral invertase, NI) 两种类型。NI 主要存在于细胞质中, 负责分解细胞质中蔗糖为果糖和葡萄糖。

原理: NI 催化蔗糖分解产生还原糖, 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 520nm 有特征光吸收, 在一定范围内 520nm 光吸收值与还原糖生成量成正比。通过光吸收增加速率来计算 NI 活性。

自备用品:

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。

粗酶液提取:

- 按照组织质量 (g): ES433 体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL ES433), 进行冰浴匀浆。12000g 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

测定步骤:

- 分光光度计或酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 520nm, 蒸馏水调零。
- 标准品的制备: 将标准品用蒸馏水稀释至 2、1.5、1.2、1、0.8、0.5、0mg/mL (0mg/mL 为空白管)。
- 样本测定 (在 EP 管中依次加入下列试剂):

试剂名称	对照管 (μL)	测定管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
样本	200	200		
标准溶液			200	
蒸馏水	800			200
AK433-A	800	800	800	800
AK433-B		800	800	800
混匀, 37℃准确水浴 30min				
AK433-C	500	500	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, 520nm 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), 分别记为 A 对照管, A 测定管, A 标准管, A 空白管。计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。每个测定管需设一个对照管 (标准曲线只需检测 1-2 次)。每个测定管需要设一个对照管。

NI 活性计算:

1. 标准曲线的建立: 以各浓度下吸光值减空白管 (浓度为 0mg/mL) 的吸光度为 y 轴, 葡萄糖浓度为 x 轴绘制标准曲线。根据标准曲线, 将 ΔA 带入方程得到 x (mg/mL)。

2. NI 活性计算:

(1) 按照蛋白浓度计算

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

$$\text{NI 活性 } (\mu\text{g/min/mg prot}) = [1000 \times x \times V1] \div (V1 \times \text{Cpr}) \div T = 33.33x \div \text{Cpr}$$

(2) 按样本鲜重计算

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

$$\text{NI 活性 } (\mu\text{g/min/g 鲜重}) = [1000 \times x \times V1] \div (W \times V1 \div V2) \div T = 33.33x \div W$$

注: 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。

※ 蛋白定量检测建议使用本公司: BCA Protein Assay Kit ([C05-02001](#))