



中性转化酶活性检测试剂盒

NI Assay Kit

微量法

产品编号: AK433M

产品规格: 100T/48S

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	30mL×1 瓶	4℃保存；
AK433-B	粉剂×1 瓶	4℃保存；临用前加入15mL AK433-A充分溶解备用；剩余试剂4℃保存；
AK433-C	15mL×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2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/酶标仪、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板、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:

1. 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。
2. 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)。
3. 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	50	50		
标准溶液			50	
蒸馏水				50
AK433-A	200			
AK433-B		200	200	200
充分混匀，37℃准确水浴 30min 后，煮沸 10min 左右 (缠封口膜，防止爆盖)，流水冷却后充分混匀 (以保证浓度不变)，12000 g，4℃离心 5min，取上清。				
上清	200	200	200	200
AK433-C	125	125	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 200 μL 至微量玻璃比色皿或 96				

孔板中，520nm 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），分别记为 A 对照管，A 测定管，A 标准管，A 空白管。计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。

注：每个测定管需设一个对照管，标准曲线只需检测 1-2 次。

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 1μg 还原糖定义为一个酶活性单位。

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

(2) 按样本鲜重计算

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

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

注：1000：单位换算系数，1mg/mL=1000μg/mL；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。

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