

中性转化酶（NI）活性检测试剂盒（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：BA1522

产品规格：100管/48样

产品内容：

提取液：液体100mL×1瓶，4℃保存；

试剂一：液体40mL×1瓶，4℃保存；

试剂二：粉剂×1瓶，4℃保存；临用前加入20mL试剂一充分溶解备用；

试剂三：液体 20mL×1 瓶，4℃保存；

标准品：粉剂×1支，4℃保存，10mg无水葡萄糖；临用前加入1mL蒸馏水溶解,制备10mg/mL葡萄糖标准液备用。

产品说明：

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 Ivr 分为酸性转化酶（AI）和中性转化酶（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。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540nm有特征光吸收，在一定范围内 540nm 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

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、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、粗酶液提取：

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、标准曲线绘制

将标准液用蒸馏水稀释为2、1.5、1.0、0.5、0.25 mg/mL葡萄糖标准液，按照测定步骤分别测定2、1.5、1.0、0.5、0.25、0 mg/mL葡萄糖标准液在540nm下的吸光度（A），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。

三、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540nm，蒸馏水调零。

2、样本测定，（在1.5mL EP管中依次加入下列试剂）：

试剂名称（uL）	测定管	对照管	标准管
粗酶液	50	50	
试剂一		200	
试剂二	200		200
标准液			50
混匀，37℃准确水浴30min后，煮沸10min左右（盖紧，以防止水分散失），			



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719779

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：shsunbao@126.com

http://www.saint-bio.com

流水冷却后充分混匀（以保证浓度不变），12000g，4℃离心5min，取上清。

试剂三	125	125	125
-----	-----	-----	-----

混匀，煮沸10min左右（盖紧，以防止水分散失），流水冷却后充分混匀，取200μL至微量玻璃比色皿或96孔板中，540nm处记录各管吸光值A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。

四、NI计算公式

标准条件下测定的回归方程为 $y = kx + b$ ；x为标准品浓度（mg/mL），y为吸光值。

1、按蛋白浓度计算

单位定义：37℃每mg蛋白每分钟产生1μg还原糖定义为一个酶活性单位。

NI 活性（U/mg prot）= $(x \times V1 \times 1000) \div (V1 \times Cpr) \div T = 33.3 \times x \div Cpr$

2、按鲜重计算

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

NI 活性（U/g）= $(x \times V1 \times 1000) \div (W \times V1 \div V2) \div T = 33.3 \times x \div W$

1000: 1 mg/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；Cpr: 样本蛋白质浓度，mg/mL；W: 样本鲜重，g；T: 反应时间：30min。

注意事项:

- 1、如果加入试剂三，煮沸10min后有混浊物出现，建议离心除去沉淀后，取上清测定吸光度；
- 2、如果吸光值大于1，可以用蒸馏水将样本稀释后测定（计算公式中乘以相应稀释倍数）



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719779

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: shsunbao@126.com

http://www.saint-bio.com