

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℃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）， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。



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

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

三、B-AI 活性计算：

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 μg 还原糖定义为一个酶活性单位。

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

（2）按鲜重计算：

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

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

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

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

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>