

## 细胞壁不溶性酸性转化酶 (B-AI) 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: BA1432

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。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100mL×1瓶, 4°C保存;

提取液2: 液体100mL×1瓶, 4°C保存;

试剂一: 液体20mL×1瓶, 4°C保存;

试剂二: 粉剂×1瓶, 4°C保存; 临用前加入10mL试剂一充分溶解备用; 用不完的试剂4°C保存;

试剂三: 液体15mL×1瓶, 4°C避光保存。

### 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 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°C离心 10min, 弃上清, 沉淀中加入 1mL 蒸馏水, 充分震荡混匀, 12000g 4°C离心 10min, 弃上清, 沉淀中加入 1mL 提取液 2 充分混匀, 4°C浸提过夜, 12000g 4°C离心 20min, 取上清置冰上待测。

#### 二、测定步骤和加样表:

- 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。
- 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°C准确水浴 30min 后, 95°C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 |



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

混匀，95°C水浴10min（盖紧，以防止水分散失），流水冷却后充分混匀，取200 $\mu$ L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)， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。每个测定管设一个对照管。

### 三、B-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。

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

(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。

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

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。

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

(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。

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

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

**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>