

可溶性酸性转化酶 (Soluble acid invertase, S-AI) 试剂盒说明书

分光光度法 50 管/24 样

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

测定意义:

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, 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。S-AI 主要存在于细胞液泡或自由空间中, 最适 pH 为 4.5~5.0 (酸性), 通过降解液泡中蔗糖, 调节液泡中蔗糖的利用和果实内糖类的积累。

测定原理:

S-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 S-AI 活性成正比。

组成:

产品名称	SC011-50T/24S	Storage
提取液: 液体	50ml	4°C
试剂一: 液体	50ml	4°C
试剂二: 粉剂	1 瓶	4°C
试剂三: 液体	30ml	4°C
说明书	一份	

试剂二: 粉剂×1 瓶, 4°C保存; 临用前加入 25ml 试剂一充分溶解备用; 用不完的试剂 4°C保存;

自备仪器和用品:

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。

粗酶液提取提取:

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

测定步骤和加样表:

试剂名称 (μl)	测定管	对照管
样本	200	200

最终解释权所有 © 伊势久 (江苏连云港) 生物科技有限责任公司, 保留一切权利



试剂一		800
试剂二	800	

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	500	500
-----	-----	-----

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

S-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 $1\mu\text{g}$ 还原糖定义为一个酶活性单位。

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

(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。

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

V1: 加入反应体系中样本体积，0.2ml；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。

