

中性转化酶 (Neutral invertase, NI) 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, 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。

测定原理:

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 510nm 有特征光吸收, 在一定范围内 510nm 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

组成:

产品名称	SC013-50T/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:

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
试剂一		800

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



试剂二	800	
混匀，37°C准确水浴30min后，95°C水浴10min（盖紧，以防止水分散失），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）， $\Delta A = A$ 测定-A 对照。		

NI 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。

NI 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。

NI 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。

