



中性转化酶(NI)/细胞质转化酶试剂盒

可见分光光度法

货号: R43945-24S

产品简介:

蔗糖酶即蔗糖转化酶 (Invertase,E.C.3.2.1.26)在蔗糖代谢中催化蔗糖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 值,蔗糖转化酶分为酸性转化酶(AI)和中性转化酶 (NI)两种类型,许多报道均将中性转化酶同碱性转化酶看作一种转化酶。NI 的最适PH 值在7.0左右,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3,5一二硝基水杨酸反应,生成棕红色氨基化合物,经光谱扫描在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。

试剂盒的组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体30mL×1瓶	4℃ 保存	
试剂一	液体30mL×1瓶	4℃ 保存	
试剂二	粉剂×1瓶	4℃ 保存	用前加入7.5mL试剂一充分溶解备用;用不完的试剂4℃保存;
试剂三	液体13mL×1瓶	4℃ 保存	
标准品	粉体mg×1支	4℃ 保存	若重新做标曲,则用到该试剂

所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿(光径1cm)、低温离心机、水浴锅、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水。

中性/碱性转化酶 (NI) 活性测定:

建议正式实验前选取2个样本做预测定,了解本批样品情况,熟悉实验流程,避免实验样本和试剂浪费!



1、样本制备:

称样本0.1g (水分充足的样本可取0.5g) 于研钵中, 加入1mL 提取液, 冰浴匀浆后转入离心管中。12000rpm, 4℃ 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注意】若样本含糖量高, 可引起A 对照值较大如超过1.6, 即检测背景值过高会影响检测, 可在样本制备过程中增加除糖步骤: 取约0.1g组织(水分充足的样本可取0.5g), 加入1mL 经预冷的95%乙醇冰浴匀浆, 4℃放置10min; 12000rpm, 4℃离心5min; 弃上清, 留沉淀, 向沉淀中加入经预冷的80% 乙醇混匀, 4℃放置5min; 12000rpm, 4℃离心5min; 弃上清, 留沉淀。再向沉淀中加入1mL 经预冷 提取液涡旋混匀, 4℃放置10min; 12000rpm, 4℃离心10min; 留上清, 弃沉淀。上清液置冰上待测。

2、上机检测:

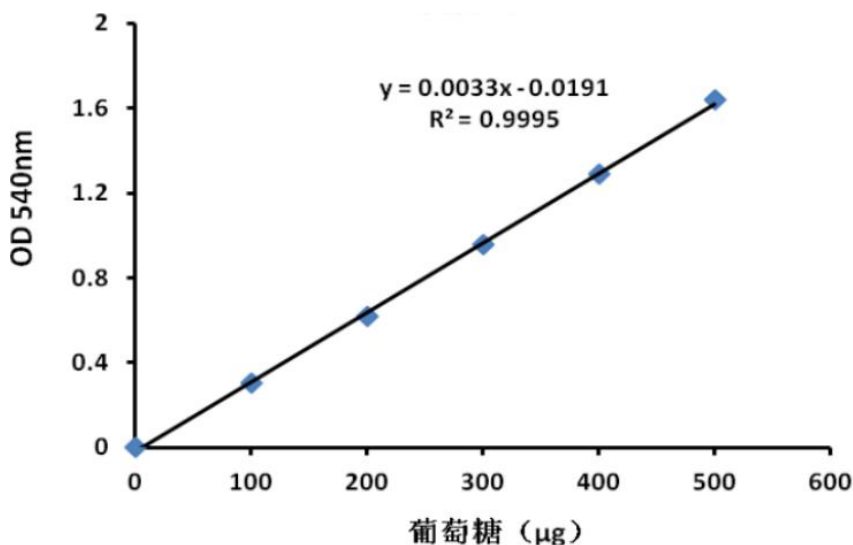
①可见分光光度计预热30min 以上, 调节波长至540nm, 蒸馏水调零。

②试剂一和二可于37℃条件下孵育15min左右, 在EP管中依次加入:

试剂名称(μL)	测定管	对照管
样本	100	100
试剂一	250	500
试剂二	250	
混匀, 37℃准确水浴20min后, 95℃水浴10min(用封口膜缠紧, 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	250	250
混匀, 95℃水浴10min(用封口膜缠紧, 以防止水分散失), 流水冷却后充分混匀, 全部上清液转移至1mL玻璃比色皿中, 540nm处读取吸光值A, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ (每个测定管需设一个对照管)。		

结果计算:

1、标准曲线方程为 $y = 0.0033x - 0.0191$; x 为标准品浓度(μg), y 为 ΔA 。



2、按蛋白浓度计算:

单位定义: 37℃每毫克蛋白每分钟产生1μg 葡萄糖定义为一个酶活性单位。

$$\text{NI 活性}(\mu\text{g}/\text{min}/\text{mg prot})=[(\Delta A+0.0191)\div 0.0033]\div(V1\times Cpr)\div T\times D$$
$$=151.5\times(\Delta A+0.0191)\div Cpr\times D$$

3、按鲜重计算:

单位定义: 37℃每克组织每分钟产生1μg 葡萄糖定义为一个酶活性单位。

$$\text{NI 活性}(\mu\text{g}/\text{min}/\text{g 鲜重})=[(\Delta A+0.0191)\div 0.0033]\div(W\times V1\div V)\div T\times D$$
$$=151.5\times(\Delta A+0.0191)\div W\times D$$

V---加入提取液体积, 1mL;

V1---加入反应体系中样本体积, 0.1mL;

T---反应时间, 20min;

W---样本鲜重, g;

D---稀释倍数, 未稀释即为1;

Cpr--- 样本蛋白质浓度, mg/mL; 建议使用本公司的BCA 蛋白含量检测试剂盒;

附: 标准曲线制作过程:



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 400-666-5481 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: 3008007435@qq.com

- 1.制备标准品母液(5mg/mL): 向标准品 EP 管里面加入1mL 蒸馏水(母液需在两天内用且-20℃保存)。
- 2.把母液稀释成六个浓度梯度的标准品: 0,1,2,3,4,5.mg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3.按照: 100μL 标准品+500μL 试剂一+250μL 试剂三, 依次加样操作, 95℃水浴10min, 冷却后, 全部上清液转移至1mL 玻璃比色皿中, 540nm 下测定, 根据结果即可制作标准曲线。



源叶