



细胞壁不溶性酸性转化酶(B-AI)试剂盒

可见分光光度法

货号: R43947-24S

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。

AI的最适pH 为3.0~5.0,AI 分为可溶性AI(S-AI)和细胞壁不溶性AI(B-AI:cell-wall binding acid invertase)两种类型,前者分布在液泡中或细胞自由空间,后者存在于细胞间隙并结合在细胞壁上。B-AI 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光吸收增加速率与B-AI活性成正比。

试剂盒的组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液A	液体30mL×1瓶	4℃保存	
提取液B	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	临用前加入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、移液器、研钵、冰和蒸馏水。

细胞壁不溶性酸性转化酶 (B-AI)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:

①按照组织质量 (g): 提取液A 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A),进行冰浴匀浆。12000rpm 4℃离心10min,弃上清,留沉淀。

②沉淀中加入1mL 蒸馏水,震荡混匀,12000rpm 4℃离心10min,弃上清,留沉淀。

③沉淀中加入1mL 提取液 B 充分混匀,4℃浸提过夜,12000 rpm 4℃离心20min,取上清置冰上待测。

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。

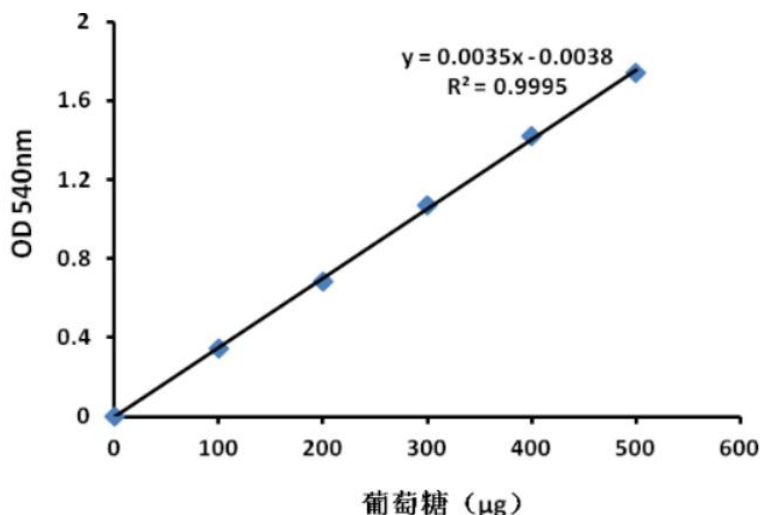
②在EP管中依次加入:

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,△A=A测定-A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 $y=0.0035x-0.0038$; x 为标准品质量(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1 μg 还原糖定义为一个酶活性单位。

细胞壁不溶性酸性转化酶(B-AI)($\mu\text{g}/\text{min}/\text{mg prot}$)

$$=[(\Delta A+0.0038)\div 0.0035]\div (V1\times Cpr)\div T\times D$$

$$=142.9\times (\Delta A+0.0038)\div Cpr\times D$$

3、按鲜重计算:

单位定义: 37℃每克组织每分钟产生1 μg 还原糖定义为一个酶活性单位。

细胞壁不溶性酸性转化酶(B-AI)($\mu\text{g}/\text{min}/\text{g 鲜重}$)

$$=(\Delta A+0.0038)\div 0.0035]\div (W\times V1\div V)\div T\times D$$

$$=142.9\times (\Delta A+0.0038)\div W\times D$$

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;



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

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:

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: 100 μ L 标准品+500 μ L 试剂一+250 μ L 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