

## 酸性转化酶（AI）活性检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1277

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(EC3.2.1.26)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。

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540nm有特征光吸收，在一定范围内540nm光吸收增加速率与AI活性成正比。

**注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。**

### 产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体100mL×1瓶	4°C
试剂一	液体40mL×1瓶	4°C
试剂二	粉剂×1瓶	4°C
试剂三	液体20mL×1瓶	4°C
标准品	粉剂×1支	4°C

### 溶液的配制：

1. 试剂二：临用前加入20mL试剂一充分溶解备用；用不完的试剂4°C保存；
2. 标准品：10mg葡萄糖，临用前加入1mL蒸馏水溶解，制备10mg/mL葡萄糖标准液备用。

### 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、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

### 操作步骤：

#### 一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

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。

#### 二、测定步骤

1. 分光光度计或酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 540nm，蒸馏水调零。
2. 标准品的制备：将标准液用蒸馏水稀释成 2、1.5、1.0、0.5、0.25、0mg/mL 葡萄糖标准液。
3. 操作表（在 1.5mLEP 管中依次加入下列试剂）：



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

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	标准管
样本	50	50	-
试剂一	-	200	-
试剂二	200	-	200
标准液	-	-	50
混匀, 37°C准确水浴 30min 后, 煮沸 10min 左右 (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), 12000g, 4°C离心 5min, 取上清。			
上清	200	200	200
试剂三	125	125	125

混匀, 煮沸 10min 左右 (盖紧, 以防止水分散失), 流水冷却后充分混匀, 取 200μL 至微量玻璃比色皿或 96 孔板中, 540nm 处记录各管吸光值 A, 计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。

### 三、AI 活性计算

#### 1. 标准曲线的建立

以各浓度下吸光值减空白管 (浓度为 0mg/mL) 的吸光度为 y 轴, 葡萄糖浓度为 x 轴绘制标准曲线。根据标准曲线, 将 $\Delta A$  带入方程得到 x ( $\mu\text{mol/mL}$ )。

#### 2. AI 活性计算

##### (1) 按样本蛋白浓度计算:

单位的定义: 37°C 每 mg 蛋白每分钟产生 1μg 还原糖定义为一个酶活性单位。

$$\text{AI 活性 (U/mg prot)} = (x \times V1 \times 1000) \div (V1 \times \text{Cpr}) \div T = 33.3 \times x \div \text{Cpr}$$

##### (2) 按样本质量计算:

单位的定义: 37°C 每 g 组织每分钟产生 1μg 还原糖定义为一个酶活性单位。

$$\text{AI 活性 (U/g 质量)} = (x \times V1 \times 1000) \div (W \times V1 \div V2) \div T = 33.3 \times x \div W$$

1000: 单位换算系数, 1mg/mL = 1000μg/mL; V1: 加入反应体系中样本体积, 0.05mL; V2: 加入提取液体积, 1mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; T: 反应时间: 30min。

### 注意事项:

1. 如果加入试剂三, 煮沸 10min 后有混浊物出现, 建议离心除去沉淀后, 取上清测定吸光度;
2. 如果吸光值大于 1, 可以用蒸馏水将样本稀释后测定 (计算公式中乘以相应稀释倍数)。
3. 由于提取液中含有一定浓度的蛋白 (约 1mg/mL), 所以在测定样本蛋白浓度时需要减去提取液本身的蛋白含量。

### 实验实例:

1. 取 0.1g 木槿加入 1mL 提取液进行匀浆研磨, 取上清用蒸馏水稀释 2 倍后按照测定步骤操作, 用 96 孔板测得计算 $\Delta A_{\text{测定}} = 0.574$ ,  $\Delta A_{\text{对照}} = 0.378$ ,  $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} = 0.574 - 0.378 = 0.196$ , 带入标准曲线  $y = 0.7408x - 0.0289$ , 计算  $x = (0.196 + 0.0289) / 0.7408 = 0.304$ , 按样本质量计算酶活得:  
 $\text{AI 活性 (U/g 质量)} = 33.3 \times x \div W \times \text{稀释倍数} = 33.3 \times 0.304 \div 0.1 \times 2 = 202.46 \text{ U/g 质量}$ 。



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