

Soluble Acid Invertase Activity Assay Kit

可溶性酸性转化酶（S-AI）试剂盒说明书

货号: BN72328 | 方法: 可见分光法 | 规格: 24 样

一、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) 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。

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,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 S-AI 活性成正比。

二、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

三、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。

四、可溶性酸性转化酶（S-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:

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	

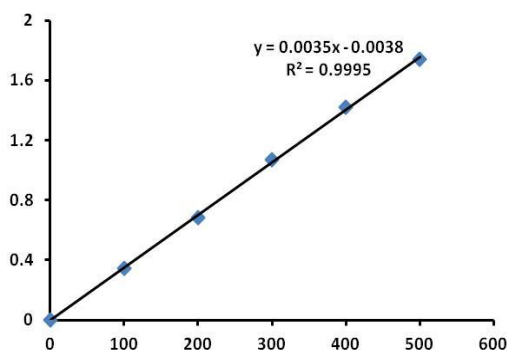
混匀，37℃准确水浴 20min 后，95℃水浴 10min（用封口膜缠紧，以防止水分散失），流水冷却后充分混匀（以保证浓度不变）		
试剂三	250	250
混匀，95℃水浴 10min（用封口膜缠紧，以防止水分散失），流水冷却后充分混匀，全部上清液转移至 1mL 玻璃比色皿中，540nm 处读取吸光值 A， $\Delta A = A$ 测定 -A 对照（每个测定管需设一个对照管）。		

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；

针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、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 。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

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。

$$\begin{aligned} \text{可溶性酸性转化酶(S-AI)} (\mu\text{g}/\text{min}/\text{mg prot}) &= [(\Delta A + 0.0038) \div 0.0035] \div (V1 \times \text{Cpr}) \div T \times D \\ &= 142.9 \times (\Delta A + 0.0038) \div \text{Cpr} \times D \end{aligned}$$

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。

$$\begin{aligned} \text{可溶性酸性转化酶(S-AI)} (\mu\text{g}/\text{min}/\text{g 鲜重}) &= [(\Delta A + 0.0038) \div 0.0035] \div (W \times V1 \div V) \div T \times D \\ &= 142.9 \times (\Delta A + 0.0038) \div W \times D \end{aligned}$$

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；