

中性转化酶 (NI) 活性检测试剂盒 (分光光度计法) (本试剂盒仅供科研使用)

产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0163	中性转化酶 (NI) 活性检测试剂盒 (分光光度计法)	50 管/24 样

产品内容

名称	规格	储存条件
提取液	液体 50mL × 1 瓶	4℃
试剂一	液体 50mL × 1 瓶	4℃
试剂二	粉剂 × 1 瓶: 临用前加入 25mL 试剂一充分溶解备用; 用不完的试剂 4℃ 保存。	4℃
试剂三	液体 30mL × 1 瓶	4℃

一、产品说明

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。

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。

二、自备材料

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。

三、粗酶液制备

按照组织质量 (g): 提取液 (mL) 为 1:5-10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液), 冰浴匀浆后, 12000g 4℃ 离心 10min, 取上清液待测。

四、操作步骤

正式测定前, 必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

1、分光光度计预热 30 min 以上, 调节波长到 510nm, 蒸馏水调零。

2、按下表操作:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
待测液	200	200
试剂一		800
试剂二	800	
混匀, 37℃ 准确水浴 30min 后, 95℃ 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℃ 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, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。

五、NI 活性的计算

标准条件下测定回归方程为: $y = 0.0016x - 0.001$; x 为标准品浓度 ($\mu\text{g/mL}$), y 为吸光值。

1、按照样本蛋白浓度计算:

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、按照样本鲜重计算:

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。