

上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0793

Size: 50T/24S

可溶性酸性转化酶 (S-AI) 检测试剂盒说明书

可见分光光度法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、测定意义:

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 的最适 pH 为 3~5。AI 分为可溶性 AI (S-AI) 和细胞壁不溶性 AI (B-AI) 两种类型。S-AI 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。

二、测定原理:

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, 在 510nm 有特征光吸收, 在一定范围内 510nm 光吸收增加速率与 S-AI 活性成正比。

三、需自备的仪器和用品:

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。

四、试剂的组成和配置:

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 50mL × 1 瓶	4℃ 保存	
试剂一	液体 50mL × 1 瓶	4℃ 保存	
试剂二	粉剂 × 1 瓶	4℃ 保存	临用前加入 25mL 试剂一充分溶解备用; 用不完的试剂 4℃ 保存;
试剂三	液体 30mL × 1 瓶	4℃ 保存	

五、粗酶液提取：

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℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

六、测定步骤和加样表：

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
样本	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，如果吸光值大于 2，可以用蒸馏水稀释后测定(计算公式中乘以相应稀释倍数)， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。

七、S-AI 活性计算：

标准条件下测定的回归方程为 $y = 0.0016x - 0.001$ ；x 为标准品浓度 (μg/mL)，y 为吸光值。

(1) 按蛋白浓度计算：

单位的定义：37℃每mg蛋白每分钟产生1 μg还原糖定义为一个酶活性单位。

$$\begin{aligned} \text{S-AI 活性 (}\mu\text{g/min/mg prot)} &= [(\Delta A + 0.001) \div 0.0016 \times V1] \div (V1 \times C_{\text{pr}}) \div T \\ &= 20.8 \times (\Delta A + 0.001) \div C_{\text{pr}} \end{aligned}$$

(2) 按鲜重计算:

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

$$\begin{aligned} \text{S-Al 活性 } (\mu\text{g}/\text{min}/\text{g 鲜重}) &= [(\Delta A + 0.001) \div 0.0016 \times V1] \div (W \times V1 \div V2) \div T \\ &= 20.8 \times (\Delta A + 0.001) \div W \end{aligned}$$

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。