

可溶性酸性转化酶（S-AI）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1171

保存：4℃避光保存 12 个月

规格：48T/96T

适用样本：植物组织

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 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。本试剂盒提供了一种检测 S-AI 活性的便捷方法，其原理是 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 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。测定 540nm 吸光度的变化可计算 S-AI 活力。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃保存
试剂一	10mL	20mL	4℃保存
试剂二	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	4℃保存
试剂三	7.5mL	15mL	常温避光保存
标准品（10mg 葡萄糖）	粉剂×1 支	粉剂×1 支	4℃保存

自备耗材

酶标仪或可见光分光光度计（能测 540nm 处的吸光度）

水浴锅、制冰机、低温离心机

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

去离子水

匀浆器

试剂准备

注意：各组分（小管试剂）开盖前，请先低速离心。

提取液：即用型；4℃保存。

试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂二：临用前 48T 加入 5mL 试剂一，96T 加入 10mL 试剂一充分溶解待用；用不完的试剂可 4℃保存一周或分装-20℃长期保存。

试剂三：即用型；常温避光保存，若有黄色晶体析出，需 90℃加热溶解后再用。

标准品：含 10 mg 无水葡萄糖，临用前加入 1mL 去离子水溶解得 10 mg/mL 标准品。溶解后的标准品可 4℃保存 1 个月或分装-20℃长期保存。

标准曲线设置：按下表所示，用去离子水将 10mg/mL 标准品稀释为 2、1、0.5、0.25、0.125、0.0625、0.0313mg/mL 的标准溶液。

产品说明书

	标准品体积 (μL)	去离子水体积 (μL)	标准品浓度 (mg/mL)
标准品 1	40μL 10mg/mL	160	2
标准品 2	100μL of 标准品 1 (2mg/mL)	100	1
标准品 3	100μL of 标准品 2 (1mg/mL)	100	0.5
标准品 4	100μL of 标准品 3 (0.5mg/mL)	100	0.25
标准品 5	100μL of 标准品 4 (0.25mg/mL)	100	0.125
标准品 6	100μL of 标准品 5 (0.125mg/mL)	100	0.0625
标准品 7	100μL of 标准品 6 (0.0625mg/mL)	100	0.0313

注意：每次实验，请使用新配制的标准品。

样本制备

组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆，12,000g，4℃离心 10min，取上清液，置冰上待测。

注意：建议使用新鲜样本。如果不立即使用，可将样品在-80℃下保存一个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用 Bradford 蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。由于提取液中含有一定浓度的蛋白（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。

实验步骤

1. 酶标仪或可见光分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 540nm，可见光分光光度计去离子水调零。
2. 样本测定（在 EP 管中依次加入下列试剂）：

试剂 (μL)	测定管	对照管	标准管	空白管
样本	50	50	0	0
试剂一	0	200	0	0
试剂二	200	0	200	200
标准品	0	0	50	0
去离子水	0	0	0	50

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	125	125	125	125
-----	-----	-----	-----	-----

混匀，95℃水浴 10min（盖紧，以防止水分散失），流水冷却后充分混匀，吸取 200 μL 于 96 孔板或者微量比色皿中，测定 540nm 处各管的吸光值，空白孔记为 $A_{空}$ ，标准孔记为 $A_{标}$ ，测定孔记为 $A_{测}$ ，对照孔记为 $A_{对}$ 。

计算 $\Delta A_{测} = A_{测} - A_{对}$ ， $\Delta A_{标} = A_{标} - A_{空}$ 。标准曲线和空白管只要测定一次，每个测定管需要设一个对照管。

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 $\Delta A_{测}$ 小于 0.001 可适当加大样本量。如果 $A_{测}$ 大于 2.0，样本可用去离子水进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。

结果计算

1. 标准曲线的绘制：

以标准溶液浓度为 y 轴， $\Delta A_{标}$ 为 x 轴，绘制标准曲线（浓度为 y 轴更方便计算结果）。

将 $\Delta A_{测}$ 带入方程得到 y (mg/mL)。

2. S-AI 酶活性计算

(1) 按照样本鲜重计算

单位定义：每 g 组织在反应体系中每分钟催化蔗糖水解生成 1μg 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

S-AI 酶活 (U/g 质量) = $y \times V_{反总} \times 10^3 \div (V_{样} \div V_{样总} \times W) \div T = 166.67y \div W$

(2) 按照蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟催化蔗糖水解生成 1μg 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

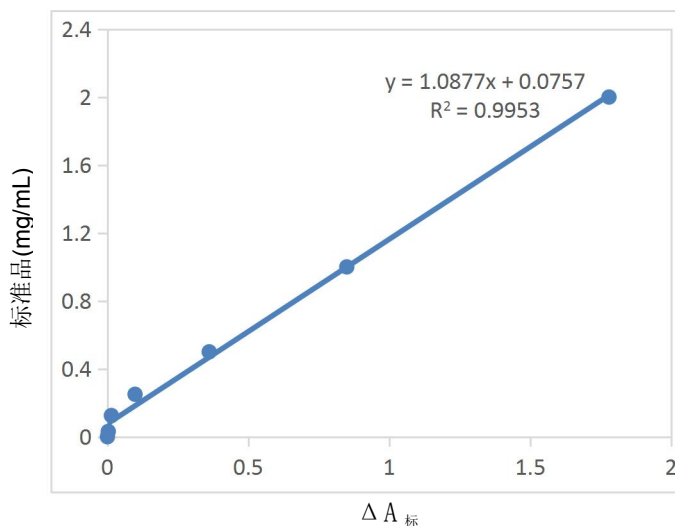
产品说明书

S-AI 酶活 (U/mg prot) = $y \times V_{\text{反应}} \times 10^3 \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 166.67y \div \text{Cpr}$

$V_{\text{反应}}$: 反应总体积, 0.25mL; $V_{\text{样}}$: 加入反应体系中样本体积, 0.05mL; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL; 10^3 : 单位换算系数, 1mg=10³μg; W: 样本鲜重, g; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; T: 反应时间: 30min。

结果展示

典型标准曲线



注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

- PMK1164 葡萄糖检测试剂盒（微量法）
- PMK1165 果糖检测试剂盒（微量法）
- PMK1166 蔗糖检测试剂盒（微量法）
- PMK1167 蔗糖酶检测试剂盒（微量法）
- PMK1168 蔗糖合成酶（分解方向 SS-I）检测试剂盒（微量法）
- PMK1169 蔗糖合成酶（合成方向 SS-II）检测试剂盒（微量法）
- PMK1170 蔗糖磷酸合成酶（SPS）检测试剂盒（微量法）
- PMK1172 中性转化酶（NI）检测试剂盒（微量法）
- PMK1173 细胞壁不溶性酸性转化酶（B-AI）检测试剂盒（微量法）



更多产品详情了解，请关注公众号：