

中性转化酶 (Neutral invertase, NI) 试剂盒说明书

微量法 100 管/48 样

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

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, 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。

测定原理:

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

组成:

产品名称	SC014-100T/48S	Storage
提取液: 液体	100ml	4°C
试剂一: 液体	20ml	4°C
试剂二: 粉剂	1 瓶	4°C
试剂三: 液体	15ml	4°C
说明书	一份	

试剂二: 粉剂×1 瓶, 4°C 保存; 临用前加入 10ml 试剂一充分溶解备用; 用不完的试剂 4°C 保存;

自备仪器和用品:

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、微量石英比色皿/96 孔板、研钵、冰和蒸馏水。

测定步骤和加样表:

- 1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 510nm, 蒸馏水调零。
- 2、样本测定, (在 EP 管中依次加入下列试剂):

试剂名称 (μl)	测定管	对照管
样本	50	50
试剂一		200
试剂二	200	

最终解释权所有 © 伊势久 (江苏连云港) 生物科技有限责任公司, 保留一切权利



混匀，37°C准确水浴30min后，95°C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	125	125
-----	-----	-----

混匀，95°C水浴10min（盖紧，以防止水分散失），流水冷却后充分混匀，取200μl至微量石英比色皿或96孔板中，510nm处记录各管吸光值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）， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。每个测定管需设一个对照管。

NI 活性计算：

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

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°C每 mg 蛋白每分钟产生 1μg 还原糖定义为一个酶活性单位。

NI 活性 (μg/min /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) 按鲜重计算：

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。

NI 活性 (μg/min /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，0.05ml；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。

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

标准条件下测定的回归方程为 $y = 0.0008x - 0.001$ ；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°C每 mg 蛋白每分钟产生 1μg 还原糖定义为一个酶活性单位。

NI 活性 (μg/min /mg prot) = $[(\Delta A + 0.001) \div 0.0008 \times V1] \div (V1 \times Cpr) \div T = 41.6 \times (\Delta A + 0.001) \div Cpr$

(2) 按鲜重计算：

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。

NI 活性 (μg/min /g 鲜重) = $[(\Delta A + 0.001) \div 0.0008 \times V1] \div (W \times V1 \div V2) \div T = 41.6 \times (\Delta A + 0.001) \div W$

V1: 加入反应体系中样本体积，0.05ml；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。

