

细胞壁不溶性酸性转化酶（B-AI）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1173

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 根据亚细胞定位的差异又可分为可溶性 AI(S-AI)和细胞壁不溶性 AI（B-AI）两种类型。B-AI 存在于细胞间隙并以离子键的形式结合在细胞壁上，主要参与韧皮部质外体卸载时蔗糖的分解，以维持库源之间蔗糖的浓度，在植物的生长发育以及抵抗各种胁迫中起着重要作用。本试剂盒提供了一种检测 B-AI 活性的便捷方法，其原理是 B-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 光吸收值与还原糖生成量成正比。通过光吸收增加速率来计算 B-AI 活性。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液一	50mL	100mL	4℃保存
提取液二	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。

提取液一：即用型；4℃保存。

提取液二：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 10mg 无水葡萄糖，临用前加入 1mL 去离子水溶解得 10mg/mL 标准品储液。溶解后的标准品可 4℃保存 1 个月或分装-20℃长期保存。取 40μL 10mg/mL 标准品储液加 160μL 去离子水混匀得到 2mg/mL 标准品。

注意：每次实验，请使用新配制的标准品。

产品说明书

样本制备

组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液一，冰浴匀浆，12,000g，4℃离心 10min，弃上清，沉淀中加入 1mL 去离子水，充分震荡混匀，12000g 4℃离心 10min，弃上清，沉淀中加入 1mL 提取液二充分混匀，4℃浸提过夜，12000g 4℃离心 20min，取上清置冰上待测。

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 BCA 蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

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

B-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 还原糖定义为一个酶活力单位。

B-AI 酶活 (U/g 质量) = $C_{标} \times (A_{测} \div \Delta A_{标}) \times V_{反总} \times 10^3 \div (V_{样} \div V_{样总} \times W) \div T = 333.33 \times (A_{测} \div \Delta A_{标}) \div W$

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 还原糖定义为一个酶活力单位。

B-AI 酶活 (U/mg prot) = $C_{标} \times (A_{测} \div \Delta A_{标}) \times V_{反总} \times 10^3 \div (V_{样} \times C_{pr}) \div T = 333.33 \times (A_{测} \div \Delta A_{标}) \div C_{pr}$

$C_{标}$ ：标准品浓度，2mg/mL； $V_{反总}$ ：反应总体积，0.25mL； $V_{样}$ ：加入反应体系中样本体积，0.05mL； $V_{样总}$ ：加入提取液体积，1mL； 10^3 ：单位换算系数，1mg=10³μg； W ：样本鲜重，g； C_{pr} ：样本蛋白质浓度，mg/mL； T ：反应时间：30min。

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）

产品说明书

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)
PMK1171 可溶性酸性转化酶 (S-AI) 检测试剂盒 (微量法)
PMK1172 中性转化酶 (NI) 检测试剂盒检测试剂盒 (微量法)
更多产品详情了解, 请关注公众号:

