



中性转化酶活性检测试剂盒

NI Assay Kit

微量法

产品编号：AK433M

产品规格：100T/48S

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
ES433	100mL×1 瓶	4℃ 保存；
AK433-A	20mL×1 瓶	4℃ 保存；
AK433-B	粉剂×1 瓶	4℃ 保存；临用前加入10mL试AK433-A充分溶解备用；剩余试剂4℃ 保存；
AK433-C	30mL×1 瓶	4℃ 保存；
AK433-标准品	粉剂×1 支	用时加入 1 mL 蒸馏水充分溶解，制备 10 mg/mL 葡萄糖标准溶液待用； 用不完的试剂 4℃ 保存一周。

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介：

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，将高等植物蔗糖转化酶分为酸性转化酶（Acid invertase, AI）和中性转化酶（Neutral invertase, 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。

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 520nm 有特征光吸收，在一定范围内 520nm 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。

自备用品：

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。

粗酶液提取：

- 按照组织质量（g）：ES433 体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL ES433），进行冰浴匀浆。12000g 4℃ 离心 10min，取上清，置冰上待测。

测定步骤：

- 分光光度计或酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 520nm，蒸馏水调零。
- 标准品的制备：将标准品用蒸馏水稀释至 2、1.5、1.2、1、0.8、0.5、0mg/mL（0mg/mL 为空白管）。
- 样本测定，（在 EP 管中依次加入下列试剂）：

试剂名称	对照管（ μ L）	测定管（ μ L）	标准管（ μ L）	空白管（ μ L）
样本	50	50		
标准溶液			50	
蒸馏水	200			50
AK433-A	200	200	200	200
AK433-B		200	200	200
混匀，37℃准确水浴 30min				
AK433-C	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，取 200 μ L 至微量石英比色皿或 96 孔板中，520nm 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），分别记为 A 对照管，A 测定管，A 标准管，A 空白管。计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$				

准管-A 空白管。每个测定管需设一个对照管（标准曲线只需检测 1-2 次）。每个测定管需要设一个对照管。

NI 活性计算：

1. 标准曲线的建立：以各浓度下吸光值减空白管（浓度为 0mg/mL）的吸光度为 y 轴，葡萄糖浓度为 x 轴绘制标准曲线。根据标准曲线，将 ΔA 带入方程得到 x（mg/mL）。

2. NI 活性计算：

(1) 按照蛋白浓度计算

单位的定义：37°C 每 mg 蛋白每分钟产生 1 μ g 还原糖定义为一个酶活性单位。

$$\text{NI 活性 } (\mu\text{g}/\text{min}/\text{mg prot}) = [x \times V1] \div (V1 \times \text{Cpr}) \div T = 33.33x \div \text{Cpr}$$

(2) 按样本鲜重计算

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

$$\text{NI 活性 } (\mu\text{g}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = [x \times V1] \div (W \times V1 \div V2) \div T = 33.33x \div W$$

注：1000：1mg/mL=1000 μ g/mL；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。

※ 蛋白定量检测建议使用本公司：BCA Protein Assay Kit ([C05-02001](#))