

## 果胶裂解酶活性检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1136

产品规格：100管/96样

### 产品简介：

果胶裂解酶（EC4.2.2.10）是果胶酶的重要组成部分，催化果胶分子链的消除裂解。来源比较广泛，主要来源于微生物，在食品加工工业中提高果汁产量方面有重要意义，在减少环境污染和降低能源消耗方面也具有潜在的应用价值。

果胶裂解酶作用于果胶中的 $\alpha$ -1,4糖苷键，生成在还原端C4和C5之间位置具有不饱和键的不饱和寡聚半乳糖醛酸，在235nm处有特征吸收峰，测定235nm下吸光度的上升来表示果胶裂解酶的活性。

**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。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

### 产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体120mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体15mL×1瓶	2-8℃

溶液的配制：

试剂一：溶液中如果有沉淀存在，可以50℃水浴助溶。

### 试验中所需的仪器和试剂：

紫外分光光度计/酶标仪、台式离心机、恒温水浴锅、微量石英比色皿/96孔UV板、可调式移液枪、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

### 操作步骤（仅供参考）：

#### 一、样品处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 组织：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。10000g，4℃离心10min，取上清，置冰上待测。
2. 细菌、真菌：按照细胞数量（ $10^4$ 个）：提取液体积（mL）为500~1000：1的比例（建议500万细胞加入1mL提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率300w，超声3秒，间隔7秒，总时间3min）；然后10000g，4℃离心10min，取上清置于冰上待测。
3. 培养液：直接测定。

#### 二、测定步骤

1. 分光光度计或酶标仪预热30min以上，调节波长至235nm，蒸馏水调零。
2. 操作表：

试剂名称（ $\mu$ L）	测定管	空白管
试剂一	180	180
酶液	20	-
蒸馏水	-	20

充分混匀后测定235nm下的初始值A1，40℃反应30min后再次测定吸光值A2，  
计算 $\Delta A$  测定管=A2 测定管-A1 测定管， $\Delta A$  空白管=A2 空白管-A1 空白管，



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

$$\Delta A = \Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}$$

### 三、果胶裂解酶活性计算

#### A、按微量石英比色皿计算：

##### 1. 按照蛋白浓度计算

酶活性定义：在 40℃，pH5.5 条件下，每毫克蛋白每分钟分解果胶产生 1nmol 不饱和半乳糖醛酸所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{PL 活性 (U/mg prot)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 64.1 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

##### 2. 按照样本质量计算

酶活性定义：在 40℃，pH5.5 条件下，每克组织每分钟分解果胶产生 1nmol 不饱和半乳糖醛酸所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{PL 活性 (U/g 质量)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \div (V_{\text{样}} \times W \div V_{\text{样总}}) \div T = 64.1 \times \Delta A \div W$$

##### 3. 按照细菌、真菌数量计算

酶活性定义：在 40℃，pH5.5 条件下，每 10<sup>4</sup> 个细胞每分钟分解果胶产生 1nmol 不饱和半乳糖醛酸所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{PL 活性 (U/10}^4\text{cell)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \div (V_{\text{样}} \times \text{细胞数量} \div V_{\text{样总}}) \div T = 64.1 \times \Delta A \div \text{细胞数量}$$

##### 4. 按照培养液体积计算

酶活性定义：在 40℃，pH5.5 条件下，每毫升培养液每分钟分解果胶产生 1nmol 不饱和半乳糖醛酸所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{PL 活性 (U/mL)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \div V_{\text{样}} \div T = 64.1 \times \Delta A$$

$\epsilon$ ：不饱和半乳糖醛酸摩尔消光系数：5200L/mol/cm； $d$ ：比色皿光径，1cm； $V_{\text{反总}}$ ：反应总体积，0.0002L； $V_{\text{样}}$ ：反应体系中样本体积，0.02mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL； $C_{\text{pr}}$ ：样本蛋白浓度，mg/mL； $W$ ，样本质量，g； $T$ ：反应时间，30min；10<sup>9</sup>：换算系数，1mol=10<sup>9</sup>nmol。

#### B、按 96 孔 UV 板计算：

将上述公式中的  $d=1\text{cm}$  修改为  $d=0.6\text{cm}$  (96 孔板光径) 进行计算即可。

#### 注意事项：

1. 若  $\Delta A$  大于 0.5，将粗酶液用蒸馏水稀释后再进行测定。若  $A_{\text{测定管}}$  大于 1.5 时，建议将样本用蒸馏水稀释后再进行测定。
2. 建议一次测定不要测定过多样本以免耽误过多的酶促反应时间。
3. 空白管正常情况下变化不超过 0.02。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com