

α -L-阿拉伯呋喃糖苷酶活性检测试剂盒（可见分光光度法）

产品货号：BA1936

产品规格：50T/24S

产品简介：

α -L-阿拉伯呋喃糖苷酶（ α -L-Arabinofuranosidase, α -L-Af）属于糖基水解酶家族，可以从含有阿拉伯糖残基的多聚物如阿拉伯木聚糖、阿拉伯聚糖和阿拉伯半乳聚糖等的非还原末端水解生成一个L-阿拉伯糖分子。该酶在单纤维素降解以及果实的成熟软化过程中有着重要作用。

α -L-Af分解对硝基苯基- α -L-阿拉伯呋喃糖苷生成对-硝基苯酚，对-硝基苯酚在400nm处有最大吸收峰，通过测定400nm处吸光值变化可计算得 α -L-Af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80mL×1瓶	2-8℃
试剂一	粉剂×2瓶	-20℃
试剂二	液体70mL×1瓶	2-8℃
标准品	液体1mL×1支	2-8℃

溶液的配制：

1. 试剂一：临用前取1瓶加入2.667mL蒸馏水，充分溶解，用不完的试剂建议分装后-20℃保存一周，避免反复冻融。
2. 标准品：5 μ mol/mL的对-硝基苯酚。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、台式低温离心机、水浴锅/恒温培养箱、1mL玻璃比色皿、可调式移液枪、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水、EP管。

操作步骤：

一、样本处理（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0.1g组织，加入1mL提取液），冰浴匀浆。15000g，4℃离心10min，取上清（若为绿色植物的茎、叶、芽等组织，建议将上清用提取液稀释5倍后检测；若为果肉等组织，上清可直接检测或根据预测定结果稀释相应倍数后检测）置冰上待测。
2. 细菌、细胞：先收集细胞或细菌样本到离心管内，离心弃上清后，按照细胞数量 10^4 个：提取液体积（mL）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或细菌（功率200w，超声3s，间隔7s，总时间3min），然后15000g，4℃，离心10min，取上清，置冰上待测。
3. 液体：直接测定。

二、测定步骤

1. 分光光度计预热30min以上，调节波长至400nm，蒸馏水调零。
2. 将5 μ mol/mL的对-硝基苯酚标准液用提取液稀释为250、125、62.5、31.25、15.625、7.8125nmol/mL的标准溶液备用。
3. 操作表（在1.5mL离心管中）：



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

试剂名称 (μL)	对照管	测定管	标准管	空白管
试剂一	-	200	-	-
蒸馏水	200	-	200	500
样本	300	300	-	-
标准溶液	-	-	300	-
混匀, 37℃水浴或恒温培养箱中准确反应30min				
试剂二	1000	1000	1000	1000
混匀, 吸取1mL于1mL玻璃比色皿中, 测定400nm处吸光值A, 分别记为A对照管、A测定管、A标准管、A空白管。计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。每个测定管需设一个对照管, 标准曲线只需检测1-2次。				

三、 α -L-Af活性计算

1. 标准曲线的绘制:

以各个标准溶液的浓度为x轴, 其对应的 ΔA 标准为y轴, 绘制标准曲线, 得到标准方程 $y=kx+b$, 将 ΔA 带入方程得到x (nmol/mL)。

2. α -L-Af 活性的计算:

(1) 按蛋白浓度计算

酶活定义: 每mg蛋白每小时产生1nmol对-硝基苯酚为1个酶活力单位。

$$\alpha\text{-L-Af 酶活 (U/mg prot)} = x \times V_{\text{提取}} \div (V_{\text{提取}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 2x \div C_{\text{pr}}$$

(2) 按样本质量计算

酶活定义: 每g样本每小时产生1nmol对-硝基苯酚为1个酶活力单位。

$$\alpha\text{-L-Af 酶活 (U/g 质量)} = x \times V_{\text{提取}} \div W \div T = 2x \div W$$

(3) 按照细胞或细菌数量计算

酶活定义: 每 10^4 个细胞每小时产生1nmol对-硝基苯酚为1个酶活力单位。

$$\alpha\text{-L-Af 酶活 (U}/10^4 \text{ cell)} = x \times V_{\text{提取}} \div \text{细胞数量 (万个)} \div T = 2x \div \text{细胞数量 (万个)}$$

(4) 按液体体积计算

酶活定义: 每mL样本每小时产生1nmol对-硝基苯酚为1个酶活力单位。

$$\alpha\text{-L-Af 酶活 (U/mL)} = x \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} \div T = 2x$$

V提取: 提取液体积, 1mL; V样: 加入的样本体积, 0.3mL; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL, 蛋白浓度自行测定; W: 样本质量, g; T: 反应时间, 0.5h。

注意事项:

1. A或 ΔA 大于1时, 建议将样本用提取液稀释后再进行测定。
2. 正式测定之前选择2-3个预期差异大的样本做预测定, 若浓度过高, 建议将样本用提取液稀释适当倍数后再进行测定, 并在计算公式中乘以稀释倍数; 若浓度过低, 建议在粗酶液提取时增加组织质量。
3. 加入试剂二后, 建议5min内读取OD值。



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

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com