

## 果胶裂解酶活性检测试剂盒（紫外分光光度法）

产品货号：BA2140

产品规格：50T/48S

### 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。**

### 产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体60mL×1瓶	2-8℃
试剂一	粉剂×1支	2-8℃
试剂二	液体50mL×1瓶	2-8℃

### 溶液的配制：

1. 工作液：将试剂一倒入试剂二于50℃水浴中溶解（期间可拿出振荡数次）。该试剂易长菌，配制完成后可-20℃分装保存，可保存12周。

### 需自备的仪器和用品：

紫外分光光度计、台式离心机、恒温水浴锅、1mL石英比色皿、可调式移液枪、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、冰和蒸馏水。

### 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. 细胞、细菌或真菌：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。（细菌、真菌等难以数量计算的微生物也可以称取0.1g细菌/真菌沉淀来进行前处理）
3. 培养液：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235nm，蒸馏水调零。
2. 操作表：（在1.5mL离心管中）。

试剂名称（ $\mu$ L）	测定管	空白管
工作液	900	900
样本	100	-
蒸馏水	-	100



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

充分混匀同时按下计时器，测定 10s 时 235nm 下的初始值 A1，40°C 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， $\Delta A = \Delta A$  测定管- $\Delta A$  空白管。空白管只需做 1-2 次。

### 三、果胶裂解酶活性计算

#### 1. 按照蛋白浓度计算

酶活性定义：在 40°C，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°C，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、真菌细胞数量计算

酶活性定义：在 40°C，pH5.5 条件下，每  $10^4$  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。

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

#### 4. 按照培养液体积计算

酶活性定义：在 40°C，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，5200 L/mol/cm; d: 比色皿光径，1cm;  $V_{\text{反总}}$ : 反应总体积，0.001L;  $V_{\text{样}}$ : 反应体系中样本体积，0.1mL;  $V_{\text{样总}}$ : 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;  $10^9$ : 换算系数，1mol=10<sup>9</sup>nmol; N: 细胞数量，以万计。

### 注意事项:

1. 若 A1 测定管大于 1.5 或者  $\Delta A$  大于 0.5，将样本粗酶液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

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com