

乙酰酯酶(AE)活性检测试剂盒(微板法)

产品货号: BA3183

产品规格: 48样

产品简介:

乙酰酯酶 (EC 3.1.1.6, AE) 已被证明是消除饲料细胞壁中阿魏酸等酚酸类木质素的关键酶。可与其他细胞壁降解酶协同作用共同促进饲料等细胞壁的降解。

试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体60mL×1瓶	2-8°C	
试剂一	液体30mL×1瓶	2-8°C	
试剂二	粉剂×2支	2-8°C	临用前每支加0.6mL无水乙醇混匀解, 仍4°C保存。
试剂三	液体6mL×1瓶	2-8°C	
标准品	粉剂×1支	2-8°C	若重新做标曲, 则用到该试剂。

所需仪器和用品:

酶标仪、96孔板、低温离心机、水浴锅、可调式移液器、研钵、蒸馏水。

乙酰酯酶(AE)活性测定:

建议正式实验前选取2个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

1. 样本制备:

①组织样本:

取约0.1g组织(水分充足的样本可取0.5g), 加入1mL提取液, 进行冰浴匀浆, 4°C×12000rpm离心15min, 取上清液待测。

[注]: 若增加样本量, 可按照组织质量(g): 提取液体积(mL)为1: 5~10的比例进行提取。

②细菌/细胞样本:

先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 取约500万细菌或细胞加入1mL提取液, 超声波破碎细菌或细胞(冰浴, 功率200W, 超声3s, 间隔10s, 重复30次); 12000rpm 4°C离心10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照细菌/细胞数量(10^4): 提取液(mL)为500~1000: 1的比例进行提取。

③液体样本:

可直接测定, 或者适当稀释后测定。若浑浊, 离心后取上清检测。

2. 上机检测:

①酶标仪预热30min, 调节波长为405nm。

②所有试剂于25°C水浴中预热10min。

③依次在EP管中依次加入:

试剂名称(μL)	样本管	对照管
样本	100	100
试剂一	220	240
试剂二	20	
混匀, 40°C孵育30min。		
试剂三	60	60
混匀, 取200μL上清液至96孔板中(若有浑浊可8000rpm离心5min后取上清), 于405nm读取A值, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ (每个样本做一个自身对照)。		



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

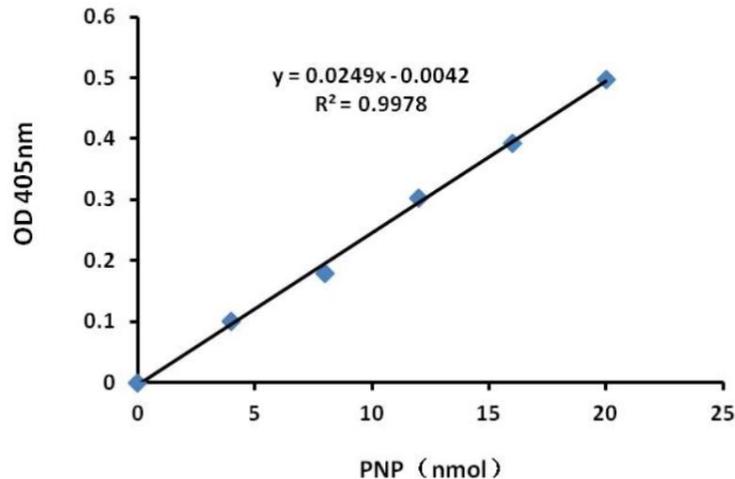
邮箱: zzlybio@126.com

【注】：① 若 ΔA 的值非常低在零附近，可增加样本量 V_1 （如增至150 μL ，则试剂一相应减少）或延长反应时间 T （如增至60min或更长），则重新调整的 V_1 和 T 代入公式重新计算。
② 若 ΔA 的值超过1，则需要稀释样本，稀释倍数 D 代入计算公式。

结果计算：

1. 标准曲线：

$y = 0.0249x - 0.0042$ ， x 是PNP摩尔质量（nmol）； y 是 ΔA 。



2. 按照样本质量计算：

酶活定义：每克组织每分钟水解底物产生1nmol PNP定义为一个酶活单位。

$$AE (\text{nmol}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = [(\Delta A + 0.0042) \div 0.0249] \div (W \times V_1 \div V) \div T \times D = 13.4 \times (\Delta A + 0.0042) \div W \times D$$

3. 按照样本蛋白浓度计算：

酶活定义：每毫克蛋白每分钟水解底物产生1nmol PNP定义为一个酶活单位。

$$AE (\text{nmol}/\text{min}/\text{mg prot}) = [(\Delta A + 0.0042) \div 0.0249] \div (Cpr \times V_1) \div T \times D = 13.4 \times (\Delta A + 0.0042) \div Cpr \times D$$

4. 按细菌/细胞数量计算：

酶活定义：每 10^4 个细胞每分钟水解底物产生1nmol PNP定义为一个酶活单位。

$$AE (\text{nmol}/\text{min}/10^4 \text{ cell}) = [(\Delta A + 0.0042) \div 0.0249] \div (500 \times V_1 \div V) \div T \times D = 0.03 \times (\Delta A + 0.0042) \times D$$

5. 按液体体积计算：

酶活定义：每毫升液体每分钟水解底物产生1nmol PNP定义为一个酶活单位。

$$AE (\text{nmol}/\text{min}/\text{mL}) = [(\Delta A + 0.0042) \div 0.0499] \div V_1 \div T = 13.4 \times (\Delta A + 0.0042)$$

W ---样品质量，g； V ---提取液体积，1mL；

V_1 ---上清液体积（mL），0.1mL； T ---反应时间，30min。

D ---稀释倍数，未稀释即为 1； 500---细胞数量，万；

Cpr ---上清液蛋白质浓度，mg/mL；建议使用本公司的BCA蛋白质含量测定试剂盒。

附：标准曲线制作过程：

1. 制备标准品母液（10 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ ）：向标准品EP管里面加入1.4ml蒸馏水超声溶解。
2. 把母液稀释成以下浓度梯度的标准品：0, 0.04, 0.08, 0.12, 0.16, 0.2 $\mu\text{mol}/\text{ml}$ 。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
3. 依据对照管的加样表操作，根据结果即可制作标准曲线。



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