

乙酰酯酶(AE)活性检测试剂盒(分光法)

产品货号：BA3401

产品规格：24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。

产品内容：

产品名称	规格	保存条件	注意事项
提取液	液体30mL×1瓶	2-8°C	
试剂一	液体30mL×1瓶	2-8°C	
试剂二	粉剂2支	-20°C, 避光	每支： 1. 加0.7mL无水乙醇混匀溶解； 2. 4°C保存。
试剂三	液体5mL×1瓶	2-8°C	
标准品	粉剂1支	2-8°C, 避光	1. 若重新做标曲，则用到该试剂； 2. 按照说明书中标曲制作步骤进行配制； 3. 溶解后的标品一周内用完。

实验器材：

研钵（匀浆机）、冰盒（制冰机）、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅（烘箱、培养箱、金属浴）、1ml比色皿、离心管、分光光度计、蒸馏水（去离子水、超纯水均可）。

指标测定：

建议先选取1-3个差异大的样本（例如不同类型或分组）进行预实验，熟悉操作流程，根据预实验结果确定或调整样本浓度，以防造成样本或试剂不必要的浪费！

1. 样本提取：

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 的比例提取

② 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。

③ 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（10⁴）：提取液（mL）为 500~1000: 1 的比例进行提取。

2. 检测步骤：

① 分光光度计预热 30min（等仪器过自检程序亦可），调节波长为 405nm，蒸馏水调零。

② 所有试剂于 25°C 水浴中预热 10min。

③ 在 EP 管中依次加入下列试剂：

试剂组分 (μL)	测定管	对照管
样本	100	100
试剂一	460	500



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

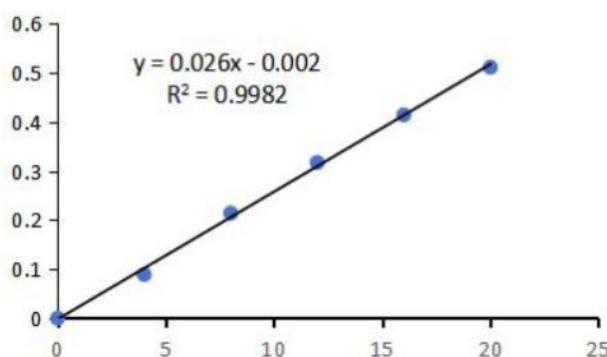
扫一扫 加微信

试剂二	40	
混匀, 40℃孵育 30min。		
试剂三	100	100
混匀, 取全部上清液至 1mL 玻璃比色皿(光径 1cm)中(若有浑浊可 8000rpm 离心 5min 后取上清), 于 405nm 读取 A 值, ΔA=A 测定-A 对照(每个样本做一个自身对照)。		

- 【注】① 若 ΔA 的值非常低在零附近, 可增加样本量 V1 (如增至 200 μ L, 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 V1 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: $y=0.026x-0.002$, 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。

$$AE \text{ (nmol/min/g 鲜重)} = [(\Delta A + 0.002) \div 0.026] \div (W \times V1 \div V) \div T \times D = 12.82 \times (\Delta A + 0.002) \div W \times D$$

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。

$$AE \text{ (nmol/min/mg prot)} = [(\Delta A + 0.002) \div 0.026] \div (Cpr \times V1) \div T \times D = 12.82 \times (\Delta A + 0.002) \div Cpr \times D$$

4. 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。

$$AE \text{ (nmol/min/mL)} = [(\Delta A + 0.002) \div 0.026] \div V1 \div T = 12.82 \times (\Delta A + 0.002)$$

5. 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。

$$AE \text{ (nmol/min/} 10^4 \text{ cell)} = [(\Delta A + 0.002) \div 0.026] \div (500 \times V1 \div V) \div T \times D = 0.0256 \times (\Delta A + 0.002) \times D$$

W---样品质量, g; V---提取液体积, 1mL; V1---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. 标曲为非必做实验, 用户可根据实验需求制作标曲, 亦可直接采用说明书计算公式进行结果计算。
2. 制备标准品母液 (10 μ mol/mL): 向标准品 EP 管里面加入 1.4ml 蒸馏水超声溶解。



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

扫一扫 加微信