

## 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℃	
试剂一	液体30mL×1瓶	2-8℃	
试剂二	粉剂2支	-20℃, 避光	每支: 1. 加0.7mL无水乙醇混匀溶解; 2. 4℃保存。
试剂三	液体5mL×1瓶	2-8℃	
标准品	粉剂1支	2-8℃, 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℃×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℃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。

#### 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℃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



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

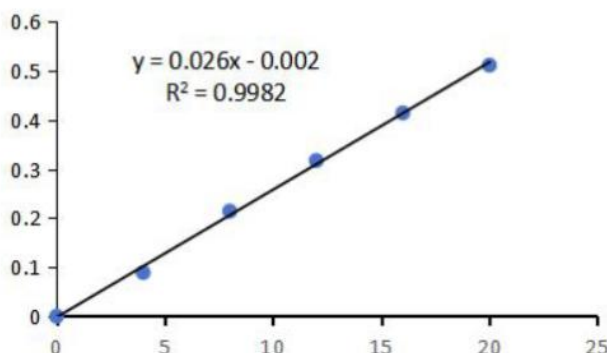
邮箱: zzlybio@126.com

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， $\Delta A=A$ 测定-A 对照（每个样本做一个自身对照）。		

- 【注】① 若 $\Delta A$ 的值非常低在零附近，可增加样本量  $V_1$ （如增至 200 $\mu$ 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  $V_1$  和  $T$  代入公式重新计算。
- ② 若 $\Delta A$ 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 $\Delta A$ 。



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。

$$AE \text{ (nmol/min/g 鲜重)} = [(\Delta A + 0.002) \div 0.026] \div (W \times V_1 \div V) \div T \times D = 12.82 \times (\Delta A + 0.002) \div W \times D$$

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。

$$AE \text{ (nmol/min/mg prot)} = [(\Delta A + 0.002) \div 0.026] \div (Cpr \times V_1) \div T \times D = 12.82 \times (\Delta A + 0.002) \div Cpr \times D$$

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。

$$AE \text{ (nmol/min/mL)} = [(\Delta A + 0.002) \div 0.026] \div V_1 \div T = 12.82 \times (\Delta A + 0.002)$$

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。

$$AE \text{ (nmol/min/10}^4 \text{ cell)} = [(\Delta A + 0.002) \div 0.026] \div (500 \times V_1 \div V) \div T \times D = 0.0256 \times (\Delta A + 0.002) \times D$$

$W$ ---样品质量，g； $V$ ---提取液体积，1mL； $V_1$ ---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. 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 $\mu$ mol/mL）：向标准品 EP 管里面加入 1.4ml 蒸馏水超声溶解。



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