

果胶裂解酶活性检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1136

产品规格：100管/96样

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 α -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。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120mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体15mL×1瓶	2-8℃

溶液的配制：

试剂一：溶液中如果有沉淀存在，可以50℃水浴助溶。

试验中所需的仪器和试剂：

紫外分光光度计/酶标仪、台式离心机、恒温水浴锅、微量石英比色皿/96孔UV板、可调式移液枪、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

操作步骤（仅供参考）：

一、样品处理（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. 细菌、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。
3. 培养液：直接测定。

二、测定步骤

1. 分光光度计或酶标仪预热30min以上，调节波长至235nm，蒸馏水调零。
2. 操作表：

试剂名称（ μ L）	测定管	空白管
试剂一	180	180
酶液	20	-
蒸馏水	-	20

充分混匀后测定235nm下的初始值A1，40℃反应30min后再次测定吸光值A2，



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

计算 ΔA 测定管=A2 测定管-A1 测定管, ΔA 空白管= A2 空白管-A1 空白管,
 $\Delta A = \Delta A$ 测定管- ΔA 空白管。

三、果胶裂解酶活性计算

A、按微量石英比色皿计算:

1. 按照蛋白浓度计算

酶活性定义: 在 40℃, 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℃, 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、真菌数量计算

酶活性定义: 在 40℃, 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。

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

4. 按照培养液体积计算

酶活性定义: 在 40℃, 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。

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

ϵ : 不饱和半乳糖醛酸摩尔消光系数: 5200L/mol/cm; d : 比色皿光径, 1cm; $V_{\text{反总}}$: 反应总体积, 0.0002 L; $V_{\text{样}}$: 反应体系中样本体积, 0.02mL; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL; C_{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=10⁹nmol。

B、按 96 孔 UV 板计算:

将上述公式中的 $d=1\text{cm}$ 修改为 $d=0.6\text{cm}$ (96 孔板光径) 进行计算即可。

注意事项:

1. 若 ΔA 大于 0.5, 将粗酶液用蒸馏水稀释后再进行测定。若 A 测定管大于 1.5 时, 建议将样本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

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com