

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℃	
试剂一	液体30mL×1瓶	2-8℃	
试剂二	粉剂×2支	2-8℃	临用前每支加0.6mL无水乙醇混匀解, 仍4℃保存。
试剂三	液体6mL×1瓶	2-8℃	
标准品	粉剂×1支	2-8℃	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℃×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℃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℃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℃孵育30min。		
试剂三	60	60



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

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）。

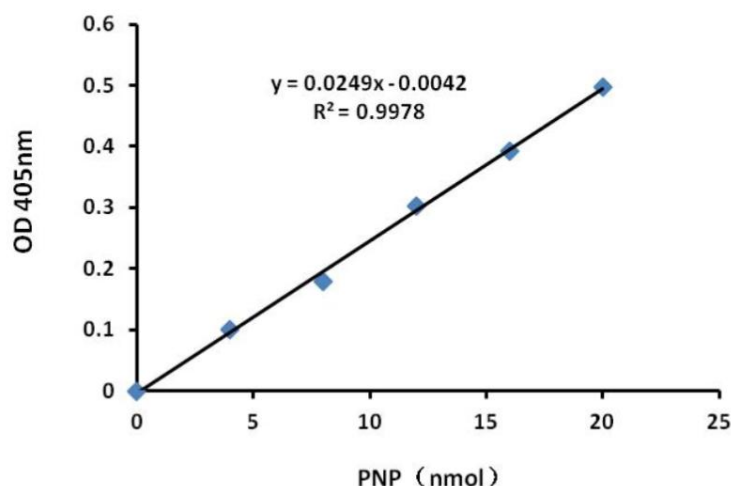
【注】：① 若 ΔA 的值非常低在零附近，可增加样本量V1（如增至150μL，则试剂一相应减少）或延长反应时间T（如增至60min或更长），则重新调整的V1和T代入公式重新计算。

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：

$y = 0.0249x - 0.0042$ ，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。

$$AE \text{ (nmol/min/g 鲜重)} = [(\Delta A + 0.0042) \div 0.0249] \div (W \times V1 \div V) \div T \times D = 13.4 \times (\Delta A + 0.0042) \div W \times D$$

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。

$$AE \text{ (nmol/min/mg prot)} = [(\Delta A + 0.0042) \div 0.0249] \div (Cpr \times V1) \div T \times D = 13.4 \times (\Delta A + 0.0042) \div Cpr \times D$$

4. 按细菌/细胞数量计算：

酶活定义：每10⁴个细胞每分钟水解底物产生1nmol PNP定义为一个酶活单位。

$$AE \text{ (nmol/min/10}^4 \text{ cell)} = [(\Delta A + 0.0042) \div 0.0249] \div (500 \times V1 \div V) \div T \times D = 0.03 \times (\Delta A + 0.0042) \times D$$

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。

$$AE \text{ (nmol/min/mL)} = [(\Delta A + 0.0042) \div 0.0499] \div V1 \div T = 13.4 \times (\Delta A + 0.0042)$$

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. 制备标准品母液（10μmol/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, 0.2μmol/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

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