

## 果胶甲酯酶(PE)试剂盒（滴定法）

产品货号：BA2659

产品规格：48样

### 产品简介：

果胶甲酯酶，属果胶酶系，亦称果胶酯酶、果胶氧化酶。催化水解果胶长链上的甲氧酯水解产生小分子物质果胶酸和甲醇，从而增加果胶在水中的溶解度。广泛存在于高等植物和可以降解细胞壁的细菌和真菌中，起内源调控植物细胞壁上及细胞之间果胶含量的作用。

果胶甲酯酶(PE)催化水解果胶分子释放H<sup>+</sup>，使反应体系的pH下降，用碱液维持体系的pH始终保持在7.8(酚酞指示剂维持在粉红色)，通过碱消耗的NaOH量反映果胶甲酯酶的活性。

### 试剂盒组成：

试剂名称	规格	保存条件	备注
提取液	液体80mL×1瓶	2-8℃	
试剂一	粉剂mg×5瓶	2-8℃	临用前甩几下使粉体落入底部，再加50mL蒸馏水于瓶中，混匀后于60℃加热溶解(中间可手动摇匀几次)。
试剂二	粉剂mg×1支	2-8℃	临用前甩几下使粉剂落入底部，再加1.5mL乙醇溶解备用。
试剂三	液体45mL×1瓶	2-8℃	
试剂四	液体25mL×1瓶	2-8℃	

### 所需仪器和用品：

天平、研钵、离心机、水浴锅或恒温培养箱

### 果胶甲酯酶(PE)的测定：

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 0.5g 组织样品(叶片类样本可取 0.15g)，加 1.5mL 提取液冰浴研磨，12000rpm、4℃ 离心 15min，取全部上清液待测。

【注】：若酶活力太高，可降低样本取样质量 W 或将上清液稀释 2-5 倍后再进行测定，并在计算公式中乘以稀释倍数 D。

(2) 细菌/培养细胞：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 2 胞加入 1.5mL 提取液，超声波破碎细菌或细胞(冰浴，功率 20%或 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，可按照细菌或细胞数量(10<sup>4</sup> 个):提取液体积(mL)为 500:1 的比例进行提取。

(3) 液体样本：直接检测。若浑浊，离心后取上清检测。

#### 2. 上机检测：

(1) 试剂一于 37℃ 烘箱保温 10min。

(2) 取出 1mL 的上清液转移至离心管或试管中。

(3) 向离心管或试管中依次加 25μL 试剂二，4mL 试剂一，混匀，并用试剂三调 pH 至 7.8(粉红色)。

(4) 将离心管或试管于 37℃(水浴锅或恒温培养箱)孵育 60min。每隔 20 分钟用试剂四调节 pH，使其维持在 7.8(粉红色)。同时记录所消耗的试剂四的体积 V<sub>2</sub>(mL)。



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

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

#### 结果计算：

1. 按照样本质量计算：

酶活定义：每克组织每小时消耗  $1\mu\text{molNaOH}$  定义为一个酶活单位 U。

$$\text{PE 活性}(\mu\text{mol/h/g})=20\times V2\div(V1\div V\times W)\div T\times D=30\times V2\div W\times D$$

2. 按照蛋白浓度计算：

酶活定义：每毫克蛋白每小时消耗  $1\mu\text{molNaOH}$  定义为一个酶活单位 U。

$$\text{PE 活性}(\mu\text{mol/h/mg prot})=20\times V2\div(V1\div V\times \text{Cpr})\div T\times D=30\times V2\div \text{Cpr}\times D$$

3. 按细菌/细胞密度计算：

酶活定义：每 1 万个细菌或细胞每小时消耗  $1\mu\text{molNaOH}$  定义为一个酶活单位 U。

$$\text{PE 活性}(\mu\text{mol/h}/10^4 \text{ cell})=20\times V2\div(V1\div V\times 500)\div T\times D=0.06\times V2\times D$$

4. 按液体样本计算：

酶活定义：每毫升液体每小时消耗  $1\mu\text{molNaOH}$  定义为一个酶活单位 U。

$$\text{PE 活性}(\mu\text{mol/h/mL})=20\times V2\div V1\div T\times D=30\times V2\times D$$

V1---加入离心管或试管中的上清液体积，1mL； V---提取液体积，1.5mL；

V2---滴定所消耗的试剂四的量，mL； T---反应时间，60min=1h；

D---样品稀释倍数； W---样品质量，g； 20---试剂四的 NaOH 浓度， $20\mu\text{mol/mL}$ ；

500---细菌或细胞总数，万；

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



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>