上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话：021-61312973　传真：021-55068248
网址：www.shyuanye.com
邮箱：shyysw@sina.com

# 果胶裂解酶活性检测试剂盒(微量法)

**货号：** R42126

**规格：** 100T/48S

**保质期：**6个月

## 产品组成及保存条件：

| 编号 | 规格 | 储存条件 |
|---|---|---|
| ES500 | 100mL×1瓶 | 2-8℃保存； |
| 试剂-A | 6mL×1瓶 | 2-8℃保存； |
| 试剂-B | 6mL×1瓶 | 2-8℃保存； |
| 试剂-C | 6mL×1瓶 | 2-8℃保存； |

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

## 简介

意义：果胶裂解酶（pectinate lyases, PL , EC4.2.2.10）是果胶酶的重要组成部分，是一种能降解植物细胞壁，导致植物组织软化甚至死亡的解聚酶，来源比较广泛，主要来源于微生物，可用于果汁、果酒的澄清，提高水果出汁率，植物病毒的纯化，纸浆的漂白和纺织品的生物精炼，在减少环境污染和降低能源消耗方面具有潜在的应用价值。

原理：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。

## 自备用品：

紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板（UV 板）、天平、低温离心机、恒温水浴锅。

## 酶液提取：

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 ES500），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 1mLES500），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. 细胞培养液等：直接检测。

## 测定步骤：

1. 分光光度计/酶标仪预热 30min，调节波长至 235nm，蒸馏水调零。

2. 操作表（在 EP 管中依次加入）：

| 试剂名称 | 对照管(ul) | 测定管(ul) |
|---|---|---|
| 试剂-A | | 120 |
| 试剂-B | 120 | |
| 40℃温育3min | | |
| 酶液 | 20 | 20 |
| 混匀，40℃反应30min | | |
| 试剂-C | 60 | 60 |
| 混匀于微量石英比色皿/96孔板(UV板)测定235nm处吸光值A,△A=A测定管-A对照管。 | | |

## 酶活性计算公式：

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

1. 组织中 PL 活性

（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。

PL 活性 (nmol/min/mg prot) = △A÷(ε×d)×V 反总÷(V 样×Cpr)÷T = 64.1×△A÷Cpr

（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。

PL 活性 (nmol/min/g 鲜重) = △A÷(ε×d)×V 反总÷(V 样×W÷V 样总)÷T = 128.2×△A÷W

2. 细菌、真菌 PL 活性

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。

PL 活性 (nmol/min/$10^4$ cell) = △A ÷(ε×d)×V 反总÷(V 样×细胞数量÷V 样总)÷T = 64.1×△A÷细胞数量

3. 培养液 PL 活性

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。

PL 活性 (nmol/min/mL) = △A÷(ε×d)×V 反总÷V 样÷T = 64.1×△A

注：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 反总：反应总体积，0.2mL；V 样：反应体系中样本体积，0.02mL；V 样总：加入提取液体积，1mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W，样本质量，g；T：反应时间，30min。

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

1. 组织中 PL 活性

（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。

PL 活性 (nmol/min/mg prot) = △A÷(ε×d)×V 反总÷(V 样×Cpr)÷T = 128.2×△A÷Cpr

（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。

PL 活性 (nmol/min/g 鲜重) = △A÷(ε×d)×V 反总÷(V 样×W÷V 样总)÷T = 128.2×△A÷W

2. 细菌、真菌 PL 活性

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。

PL 活性 (nmol/min/$10^4$ cell) =△A÷(ε×d)×V 反总÷(V 样×细胞数量÷V 样总)÷T = 128.2×△A÷细胞数量

3. 培养液 PL 活性

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。

PL 活性 (nmol/min//mL) = △A÷(ε×d)×V 反总÷V 样÷T = 128.2×△A。

注：ε：不饱和半乳糖醛酸摩尔消光系数：5200L/mol/cm；d：比色皿光径，0.5cm；V 反总：反应总体积，0.2mL；V 样：反应体系中样本体积，0.02mL；V 样总：加入提取液体积，1mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W，样本质量，g；T：反应时间，30min。