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(紫外分光光度法)

货号： R42127

规格： 50T/24S

保质期：6个月

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
ES500	50mL×1瓶	2-8℃保存；
试剂-A	15mL×1瓶	2-8℃保存；
试剂-B	15mL×1瓶	2-8℃保存；
试剂-C	15mL×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、1 mL 石英比色皿、天平、低温离心机、恒温水浴锅、可调式移液枪、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、冰和蒸馏水。

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. 细胞、细菌或真菌：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 ES500），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（细菌、真菌等难以数量计算的微生物也可以称取 0.1g 细菌/真菌沉淀来 进行前处理）。

3. 细胞培养液等：直接检测。

测定步骤：

1. 分光光度计预热 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		600
试剂-B	600	
40℃温育3min		
酶液	100	100
混匀，40℃反应30min		
试剂-C	300	300
混匀，对照管调零，1mL石英比色皿测定235nm处吸光值A。		

酶活性计算公式：

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 (U/mg prot) = A÷(ε×d)×V 反总×10^9÷(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 (U/g 鲜重) = A÷(ε×d)×V 反总×10^9÷(V 样×W÷V 样总)÷T = 64.1×A÷W

2. 细胞、细菌或真菌 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 (U/10^4 cell) = A÷(ε×d)×V 反总×10^9÷(V 样×细胞数量÷V 样总)÷T = 64.1×A÷N

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 (U/mL) = A÷(ε×d)×V 反总×10^9÷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，1mL；V 样：反应体系中样本体积，0.1mL；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；10^9：换算系数，1mol=10^9nmol；N：细胞数量，以万计。