



柠檬苦素转化酶活性试剂盒

可见分光光度法

货号: R43846-48S

产品简介:

以柠檬苦素为代表的三萜化合物是柑橘类水果在加工过程中产生“后苦味”的主要原因,采用酶法转化使柠檬苦素的含量降低是目前较适合果汁加工业的方法。柠檬苦素转化酶的活性大小与消耗掉的柠檬苦素含量成正比,柠檬苦素与 Ehrlich 试剂形成稳定的红色配合物,测定其吸光度 OD 值变化,即可得出柠檬苦素转化酶的活性大小。

试剂盒的组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体60mL×1瓶	4℃保存	
试剂	粉剂mg×1支	4℃保存	临用前甩几下或离心使粉剂落入底部,再加5.5mL试剂二溶解备用
试剂二	液体12mL×1瓶	4℃保存	
试剂三	三A:mg×1支 三B:液体10mL×3瓶	4℃保存	临用前甩几下使试剂落入底部,再向三A中加0.5mL水溶解备用。再向一瓶三B中加50μL的三A混匀后做为试剂三使用(该混合液有挥发性和弱酸性,操作过程可戴上手套谨慎操作)。
标准品	粉剂mg×1支	4℃保存	若重新做标曲则用到该试剂。

所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿(光径1cm)、石油醚、可调式移液枪、离心机。

3-磷酸甘油氧化酶(GPO) 含量测定:

1、样本制备:

①组织样本:称取0.1g,加入1mL 石油醚进行研磨匀浆,12000rpm,25℃ 离心10min,弃上清(尽量保留沉淀),再加入1mL 石油醚重复以上操作,最后一步沉淀中加入 1mL 提取液,涡旋震荡混匀,12000rpm,4℃离心10min,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细菌或细胞:先收集细菌或细胞到离心管内,离心后弃上清;取约500万细菌或细胞,加入1mL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);12000 rpm,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:直接检测;若浑浊,离心后取上清检测。

2、上机检测:

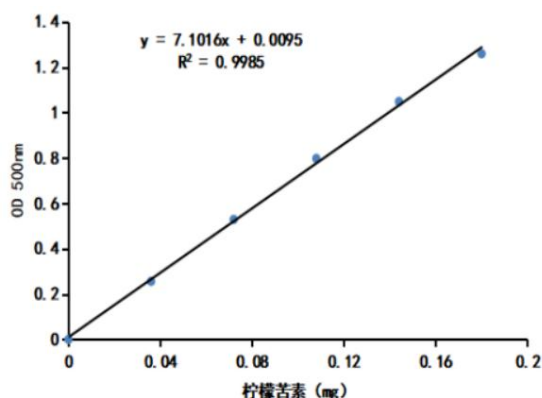
①可见分光光度计预热30min,调节波长到500 nm,蒸馏水调零。

②所有试剂解冻至室温(25℃);在EP管中依次加入:

试剂名称(μL)	测定管	空白(仅做一次)
样本	60	
试剂一	90	90
试剂二	100	160
混匀,室温孵育20min(间隔5min混匀一次)		
试剂三	500	500
混匀,室温孵育30min,将全部液体转移至1cm比色皿中于500nm处读值。 $\Delta A = A_{\text{空白}} - A_{\text{测定}}$		

结果计算:

1、标准曲线方程为 $y = 7.1016x + 0.0095$; x为标准品质量(mg), y为 ΔA 。





2、按照样本质量计算:

酶活定义: 每克组织每小时分解1mg 柠檬苦素定义为一个酶活单位 (U)。

$$\begin{aligned}\text{柠檬苦素转化酶活性}(\text{mg/h/g 重量}) &= [(\Delta A - 0.0095) \div 7.1016] \div (W \times V1 \div V) \div T \times D \\ &= 7 \times (\Delta A - 0.0095) \div W \times D\end{aligned}$$

3、按照样本蛋白浓度计算:

酶活定义: 每毫克组织蛋白每小时分解1mg 柠檬苦素定义为一个酶活单位 (U)。

$$\begin{aligned}\text{柠檬苦素转化酶活性}(\text{mg/h/mg prot}) &= [(\Delta A - 0.0095) \div 7.1016] \div (Cpr \times V1) \div T \times D \\ &= 7 \times (\Delta A - 0.0095) \div Cpr \times D\end{aligned}$$

4、按细胞数量计算:

酶活定义: 每1万细胞数量每小时分解1mg 柠檬苦素定义为一个酶活单位 (U)。

$$\begin{aligned}\text{柠檬苦素转化酶活性}(\text{mg/h}/10^4\text{cell}) &= [(\Delta A - 0.0095) \div 7.1016] \div (500 \times V1 \div V) \div T \times D \\ &= 7 \times (\Delta A - 0.0095) \div 500 \times D\end{aligned}$$

5、按液体体积计算:

酶活定义: 每毫升液体每小时分解1mg 柠檬苦素定义为一个酶活单位 (U)。

$$\begin{aligned}\text{柠檬苦素转化酶活性}(\text{mg/h/mL}) &= [(\Delta A - 0.0095) \div 7.1016] \div V1 \div T \times D \\ &= 7 \times (\Delta A - 0.0095) \times D\end{aligned}$$

W---样品质量, g;

V---提取液体积, 1mL;

V1--- 上清液体积(mL), 0.06mL;

T---反应时间, 20 min=1/3h;

D---稀释倍数, 未稀释即为1;

500---细胞数量, 万;

Cp--- 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:



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 400-666-5481 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: 3008007435@qq.com

- 1.标准品浓度: 称取2mg标准品至EP 管中, 加入1mL 试剂二溶解成2mg/mL。
- 2.把标准品稀释成以下浓度梯度的标准品: 0,0.4,0.8,1.2,1.6,2mg/mL。
- 3.依据90 μ L 标准品+160 μ L 试剂二+500 μ L 试剂三, 孵育30min 后于500nm 处测定; 根据结果即可制作标准曲线。



源叶