

Pectin Lyase Activity Assay Kit

果胶裂解酶(PL)活性检测试剂盒 分光法

产品编号	产品名称	规格
BL1812A	果胶裂解酶(PL)活性检测试剂盒 分光法	48T

产品简介:

果胶酶是指分解果胶的多种酶, 主要包括多聚半乳糖醛酸酶(PG), 果胶裂解酶(PL), 果胶甲酯酶(PME)和原果胶酶, 贮藏过程中起作用的主要是 PG。所以该酶在食品贮藏保鲜和植物抗病性等领域具有较高的研究价值。

果胶在多聚半乳糖醛酸酶(PG)作用下, 能水解产生带有具有还原性醛基的半乳糖醛酸。与 DNS 试剂反应生成红棕色物质, 在 540nm 有特征吸收峰, 测定 540nm 处吸光值变化可计算得多聚半乳糖醛酸酶活性。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求
提取液	60mL×1 瓶	4°C保存
试剂一	30mL×1 瓶	4°C保存
试剂二	30mL×1 瓶	4°C保存
试剂三	30mL×1 瓶	4°C保存

使用方法:

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!

一、样本准备

1. 组织样本:

- 取约 0.1g 组织 (水分充足的样本可取 0.2g), 加入 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆;
- 12000rpm, 4°C离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【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/真菌到离心管内, 离心后弃上清; 取 500 万细菌/细胞加入 1mL 提取液;
- 冰浴超声波破碎细菌/细胞 (冰浴, 功率 20%或 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次);
- 12000rpm, 4°C离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 按照每 $0.5\sim 1\times 10^7$ 个细菌/细胞加入 1mL 提取液进行提取。

3. 液体样品:

直接检测。若浑浊, 离心后取上清检测。

二、样品测定

- 紫外分光光度计预热 30min, 调节波长至 235nm, 蒸馏水调零。
- 试剂一和试剂二预先在 50°C水浴 5min。
- 在离心管中依次加入:



试剂名称 (μL)	测定管	对照管
试剂一	600	-
试剂二	-	600
上清液	100	100
混匀, 50°C反应 30min		
试剂三	300	300
混匀, 可转移 800μL 于 1mL 石英比色皿 (光径 1cm) 测定 235nm 处吸光值 A, $\Delta A=A$ 测定管-A 对照管 (每个样本做一个自身对照)。		

【注】: 1.若 A 测定管大于 2, 可减少上清液取样量 V1 (如减至 50μL 则用 50μL 的蒸馏水补齐), 则改变后的 V1 需代入公式重新计算。

2.若 ΔA 在零附近徘徊, 可增加上清液取样量 V1 (如增至 150μL 则试剂三相应减少), 或延长反应时间 T (如由 30min 延长至 60min), 则改变后的 V1 和 T 需代入公式重新计算。

三、结果计算

1. 按照蛋白浓度计算:

酶活性定义: 在 50°C, 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。

果胶裂解酶 (PL) 活性(nmol/min/mg prot)= $\Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V2 \div (V1 \times Cpr) \div T = 72.46 \times \Delta A \div Cpr$

2. 按照样本质量计算:

酶活性定义: 在 50°C, 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。

果胶裂解酶 (PL) 活性(nmol/min/g 鲜重)= $\Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V2 \div (V1 \div V \times W) \div T = 72.46 \times \Delta A \div W$

3. 按细菌/细胞密度计算:

酶活性定义: 在 50°C, 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。

果胶裂解酶 (PL) 活性(nmol/min/10⁴ cell)= $\Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V2 \div (V1 \div V \times 500) \div T = 0.145 \times \Delta A$

4. 按液体体积计算:

酶活性定义: 在 50°C, 每毫升液体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。

果胶裂解酶 (PL) 活性(nmol/min/mL)= $\Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V2 \div V1 \div T = 72.46 \times \Delta A$

ϵ ---不饱和半乳糖醛酸摩尔消光系数: 4600L/mol/cm d---比色皿光径, 1cm

V---加入提取液体积, 1mL

W---样本质量, g

V1---反应体系中上清液体积, 0.1mL

500---细菌或细胞总数, 500 万

V2---反应总体积, 1×10⁻³L

T---反应时间, 30min

Cpr---样本蛋白浓度, mg/mL

注意事项:

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品。
2. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期:

4°C保存六个月。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。

