

果胶裂解酶（PL）活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PYHA6-C24	果胶裂解酶（PL）活性检测试剂盒	24T	常量法

一、测定意义：

果胶裂解酶是果胶酶的重要组成部分，催化果胶分子链的消除裂解。来源比较广泛，主要来源于微生物，在食品加工工业中提高果汁产量方面有重要意义，在减少环境污染和降低能源消耗方面也具有潜在的应用价值。

二、测定原理：

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，测定 235nm 下吸光度的上升来表示果胶裂解酶的活性。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(24T)	保存条件
提取液	液体 30 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	粉剂×1 支	2-8℃保存
试剂二	液体 25 mL×1 瓶	2-8℃保存

溶液的配制：

1. 工作液：将试剂一倒入试剂二于 50℃水浴中溶解（期间可拿出振荡数次）该试剂易长菌，配制完成后可-20℃分装保存，可保存 12 周。

四、操作步骤：

样本前处理

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 提取液）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 提取液），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. 培养液：直接测定。

测定步骤

- 1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 235nm，蒸馏水调零。
- 2、操作表：(在 1.5mL 离心管中)

试剂名称	测定管	空白管
工作液 (μL)	900	900
样本 (μL)	100	-
蒸馏水 (μL)	-	100

充分混匀同时按下计时器, 测定 10s 时 235nm 下的初始值 A1, 40℃反应 30min 后再次测定吸光值 A2, 计算 ΔA
 测定管=A2 测定管-A1 测定管, ΔA 空白管= A2 空白管-A1 空白管, ΔA=ΔA 测定管-ΔA 空白管。空白管
 只需做 1-2 次。

五、果胶裂解酶活性计算:

计算公式如下

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。

$$\text{PL 活性 (U/mg prot)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 64.1 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

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。

$$\text{PL 活性 (U/g 质量)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \div (V_{\text{样}} \times W \div V_{\text{样总}}) \div T = 64.1 \times \Delta A \div W$$

3. 按照细菌、真菌细胞数量计算

酶活性定义: 在 40℃, pH5.5 条件下, 每 10⁴ 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。

$$\text{PL 活性 (U/10}^4 \text{ cell)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \div (V_{\text{样}} \times N \div V_{\text{样总}}) \div T = 64.1 \times \Delta A \div N$$

4. 按照培养液体积计算

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。

$$\text{PL 活性 (U/mL)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \div V_{\text{样}} \div T = 64.1 \times \Delta A$$

ε: 不饱和半乳糖醛酸摩尔消光系数, 5200 L/mol/cm; d: 比色皿光径, 1cm; V 反总: 反应总体积, 0.001L;

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; 10⁹: 换算系数, 1mol=10⁹nmol; N: 细胞数量, 以万计。

注意事项:

1、若 A1 测定管大于 1.5 或者 ΔA 大于 0.5, 将样本粗酶液用蒸馏水稀释后再进行测定。

- 2、建议一次测定不要测定过多样本以免耽误过多的酶促反应时间。
- 3、空白管正常情况下变化不超过 0.02。

六、计算举例：

1、取0.1g 香蕉皮加入 1mL 提取液进行冰浴匀浆。10000g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。之后按照测定步骤操作，测得计算 ΔA 测定管 = A2 测定管 - A1 测定管 = 0.43 - 0.421 = 0.009， ΔA 空白管 = A2 空白管 - A1 空白管 = 0.217 - 0.217 = 0，按样本质量计算酶活得：

$$\text{PL 活性 (U/g 质量)} = 64.1 \times \Delta A \div W = 5.526 \text{ U/g 质量。}$$

2、取0.1g 大肠杆菌沉淀加入 1mL 提取液冰浴超声波破碎细胞，然后 10000g，4℃离心 10min，取上清置于冰上，之后按照测定步骤操作，测得计算 ΔA 测定管 = A2 测定管 - A1 测定管 = 1.352 - 0.923 = 0.429， ΔA 空白管 = A2 空白管 - A1 空白管 = 0.217 - 0.217 = 0，按照样本质量计算酶活得：

$$\text{PL 活性 (U/g 质量)} = 64.1 \times \Delta A \div W = 274.99 \text{ U/g 质量。}$$

七、相关产品：

- 1、植物丙二醛（MDA）含量检测试剂盒
- 2、植物过氧化氢酶（CAT）活性检测试剂盒
- 3、植物超氧化物歧化酶（SOD）活性检测试剂盒

八、公司介绍

南京陌凡生物科技有限公司，是一家专业从事生化试剂研发、试剂盒经营的高科技生物工程企业。总部位于江苏南京，公司本着“以人为本、创新驱动、质量保障、诚信经营”核心理念。自公司成立伊始，长期聚焦科研客户关注的挑战与压力，致力于提供生化试剂盒领域有革新的产品和解决方案。产品覆盖面广，先后开发了氧化应激，能量代谢、植物逆境、离子类等类别的多种试剂及试剂盒。因可靠的质量、完善的售后服务和优势的价格，为客户及时获得真实可靠的检测数据，轻松发表高质量的研究论文保驾护航。