

上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0798

Size: 50T/48S

果胶裂解酶检测试剂盒说明书

可见分光光度法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、测定意义：

果胶裂解酶（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。

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。

三、需自备的仪器和用品：

天平、低温离心机、紫外分光光度计、1mL 石英比色皿、恒温水浴锅。

四、试剂的组成和配置：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 50mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 30mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	液体 15mL×1 瓶	4℃保存	

五、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 提取液），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 (10⁴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。
3. 培养液：直接测定。

六、测定操作表

	对照管	测定管
试剂一 (μL)	600	600
40℃温育 3min		
酶液 (μL)		100
试剂二 (μL)	300	
混匀，40℃反应 30min		
酶液 (μL)	100	
试剂二 (μL)		300
混匀，对照管调零，1mL 石英比色皿测定 235nm 处吸光值 A。		

七、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。

$$\text{PL 活性 (nmol/min/mg prot)} = A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 64.1 \times A \div C_{\text{pr}}$$

(2) 按照样本质量计算

酶活性定义：在 40°C，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。

$$\text{PL 活性 (nmol/min/g)} = A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times W \div V_{\text{样总}}) \div T = 64.1 \times A \div W$$

2. 细胞 PL 活性

酶活性定义：在 40°C，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。

$$\begin{aligned} \text{PL 活性 (nmol/min/10}^4\text{cell)} &= A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{细胞数量} \div V_{\text{样总}}) \div T \\ &= 64.1 \times A \div \text{细胞数量} \end{aligned}$$

3. 培养液 PL 活性

酶活性定义：在 40°C，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。

$$\text{PL 活性 (nmol/min/mL)} = A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 64.1 \times A$$

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。