



## 果胶裂解酶活性检测试剂盒 PL Assay Kit

微量法

产品编号: AK500M  
产品规格: 100T/48S  
产品组成及保存条件:

| 编号      | 规格        | 储存条件  |
|---------|-----------|-------|
| ES500   | 100mL×1 瓶 | 4℃保存; |
| AK500-A | 6mL×1 瓶   | 4℃保存; |
| AK500-B | 6mL×1 瓶   | 4℃保存; |
| AK500-C | 6mL×1 瓶   | 4℃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, 提高水果榨汁率, 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  $\alpha$ -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/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板 (UV 板)、天平、低温离心机、恒温水浴锅。

### 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. 细菌、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。
3. 细胞培养液等: 直接检测。

### 测定步骤:

1. 分光光度计/酶标仪预热 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) |
|--|----------|----------|
| AK500-A  |          | 120      |
| AK500-B  | 120      |          |
| 40℃温育 3min   |          |          |
| 酶液   | 20       | 20       |
| 混匀, 40℃反应 30min  |          |          |
| AK500-C  | 60       | 60       |
| 混匀于微量石英比色皿/96 孔板 (UV 板) 测定 235nm 处吸光值 A, $\Delta A = A$ 测定管 - A 对照管。 |          |          |

### 酶活性计算公式:

- a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

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。

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

(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。

$$\text{PL 活性 (nmol/min/g 鲜重)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times W \div V_{\text{样总}}) \div T = 128.2 \times \Delta A \div W$$

2. 细菌、真菌 PL 活性

**酶活性定义：**在 40℃，pH5.5 条件下，每 10<sup>4</sup> 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。

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

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。

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

**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<sub>反总</sub>：反应总体积，0.2mL；V<sub>样</sub>：反应体系中样本体积，0.02mL；V<sub>样总</sub>：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。

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

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。

$$\text{PL 活性 (nmol/min/mg prot)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 128.2 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

(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。

$$\text{PL 活性 (nmol/min/g 鲜重)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times W \div V_{\text{样总}}) \div T = 128.2 \times \Delta A \div W$$

2. 细菌、真菌 PL 活性

**酶活性定义：**在 40℃，pH5.5 条件下，每 10<sup>4</sup> 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。

$$\text{PL 活性 (nmol/min/10}^4 \text{ cell)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{细胞数量} \div V_{\text{样总}}) \div T = 128.2 \times \Delta A \div \text{细胞数量}$$

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。

$$\text{PL 活性 (nmol/min/mL)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 128.2 \times \Delta A$$

注： $\epsilon$ ：不饱和半乳糖醛酸摩尔消光系数：5200L/mol/cm；d：比色皿光径，0.5cm；V 反总：反应总体积，0.2mL；V 样：反应体系中样本体积，0.02mL；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。