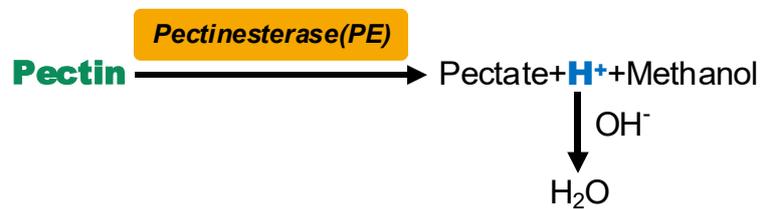




果胶酯酶 (PE) 活性检测试剂盒
Pectinesterase (PE) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



果胶酯酶 (PE) 活性检测试剂盒

Pectinesterase (PE) Activity Assay Kit

一、产品描述

果胶酯酶又称果胶甲基酯酶、果胶氧化酶，广泛存在于植物及微生物中，是构成植物细胞壁的主要成分之一。果胶酯酶能够催化果胶中甲氧酯基水解产生果胶酸和甲醇，在植物发育、适应与防御中发挥核心作用，在食品工业中具有极其重要的作用和开发前景。

果胶酯酶催化果胶水解过程中释放出 H^+ ，反应体系 pH 下降，通过加入碱液将反应体系 pH 稳定在 7.8，通过碱液消耗的体积变化即可表征果胶酯酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
提取液	粉剂×1 瓶	室温保存	使用前加入 100 mL 蒸馏水充分溶解 (配制后 4°C 可保存 3 个月)
试剂一	粉剂×1 瓶	室温保存	使用前加入 100 mL 蒸馏水，50°C 加热至完全溶解，蒸馏水定容至 250 mL (配制后 4°C 可保存 2 个月)
试剂二	液体 1.5 mL×1 支	4°C 保存	-
试剂三	液体 10 mL×1 瓶	4°C 保存	-

注：试剂一较难溶解，50°C 加热过程中可使用磁力搅拌或超声促溶，约 3-4 h 至完全溶解（建议提前制备）。

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱、250 mL 容量瓶、10 mL 离心管和蒸馏水。注：研钵/匀浆器和提取液需 4°C 预冷 10 min 以上。

1. 粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①组织：按照组织质量 (g)：提取液体积 (mL) 为 1：(3-5) 的比例（建议称取 0.5 g 组织，加入 1.5 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，4°C 12000 g 离心 10 min，取上清液置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量 (10^4 个)：提取液体积 (mL) 为 (500-1000)：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1.5 mL 提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 3 min），4°C 12000 g 离心 10 min，取上清液置于冰上待测。

③液体样本：直接检测或适当稀释后再进行检测。

2. 测定步骤

- ① 试验前将试剂一置于 37°C 预热 10 min 以上。
- ② 试剂三应用液的制备 (现用现配): 使用前根据使用量按试剂三: 蒸馏水=1:15 的体积比配制。
- ③ 在 10 mL 离心管中依次加入下列试剂:

试剂	测定管 (μL)
粗酶液	1000
试剂二	25
试剂一	4000

充分混匀, 使用试剂三应用液调节
pH 至 7.8, 溶液显示为粉红色

④ 37°C 准确反应 60 min, 酶促过程中产生 H^+ , 反应液 pH 为酸性, 溶液颜色会由粉红色变为无色透明; 每隔 20 min 需使用试剂三应用液调 pH 至 7.8, 即颜色由无色透明突变为粉红色即可, 记录所消耗试剂三应用液的总体积, 记为 V_1 (mL)。

3. 果胶酯酶 (PE) 活性计算

- ① 按组织蛋白浓度计算

单位定义: 每 mg 组织蛋白每分钟消耗 1 μmol NaOH 定义为一个酶活性单位。

$$\text{PE (U/mg prot)} = \frac{25 \times V_1 \times D}{V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}} \times T} = \frac{0.417 \times V_1 \times D}{C_{\text{pr}}}$$

- ② 按组织样本质量计算

单位定义: 每 g 组织每分钟消耗 1 μmol NaOH 定义为一个酶活性单位。

$$\text{PE (U/g)} = \frac{25 \times V_1 \times V_{\text{提}} \times D}{V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{0.625 \times V_1 \times D}{W}$$

- ③ 按细菌或细胞数量计算

单位定义: 每 10^4 个细菌或细胞每分钟消耗 1 μmol NaOH 定义为一个酶活性单位。

$$\text{PE (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{25 \times V_1 \times V_{\text{提}} \times D}{V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞} \times T} = \frac{0.625 \times V_1 \times D}{\text{细菌或细胞}}$$

- ④ 液体样本体积计算

单位定义: 每 mL 液体样本每分钟消耗 1 μmol NaOH 定义为一个酶活性单位。

$$\text{PE (U/mL)} = \frac{25 \times V_1 \times D}{V_{\text{样}} \times T} = 0.417 \times V_1 \times D$$

注释: V1: 酶促过程中消耗试剂三应用液的总体积, mL; V 样: 反应体系中加入粗酶液的体积, 1 mL; V 提: 粗酶液提取过程中加入提取液的体积, 1.5 mL; Cpr: 粗酶液蛋白浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; 细菌或细胞数量: 以万计, 若 500 万细菌或细胞则代入 500 即可; T: 酶促反应时间, 60 min; D: 待测样本稀释倍数, 若未稀释则为 1; 25: NaOH 浓度, $\mu\text{mol/mL}$ 。

四、注意事项

- ①使用试剂三应用液调节 pH 至 7.8 时, 适当调整试剂三应用液体积或小体积加入, 防止调过 pH;
- ②若样本酶活过高, 建议将粗酶液使用提取液适当稀释后再进行测定; 若酶活过低建议制备更高浓度粗酶液再进行测定, 计算时相应修改;
- ③为保证结果准确且避免试剂损失, 测定前请仔细阅读说明书 (以实际收到说明书内容为准), 确认试剂储存和准备是否充分, 操作步骤是否清楚, 且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定, 过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

