



果胶裂解酶 (PL) 活性检测试剂盒

Pectin Lyase (PL) Activity Assay Kit



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



果胶裂解酶（PL）活性检测试剂盒

Pectin Lyase (PL) Activity Assay Kit

一、产品描述

果胶裂解酶是通过 β -反式消除作用切割 α -1,4-糖苷键降解去甲酯化果胶产生寡聚糖的酶类，作为果胶酶的重要组成部分，广泛存在于植物果实和微生物中，参与植物生长发育、花器官发育、果实成熟软化、与病原微生物相互作用等不同的生理过程，并在饲料加工、纺织和造纸等领域具有广泛应用。

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 之间具有不饱和键的不饱和寡聚半乳糖醛酸，产物在 235 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征果胶裂解酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件
提取液	液体 110 mL×1 瓶	4°C 保存
试剂一	粉剂×1 支	4°C 避光保存
试剂二	液体 20 mL×1 瓶	4°C 避光保存

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿（光径 10 mm）/96 孔 UV 板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

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:（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，4°C 12000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

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 mL 提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率 300 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 3 min），4°C 12000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③液体样本：直接检测或使用适当稀释后再进行检测。

2. 测定步骤

①紫外分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 235 nm，蒸馏水调零。

②**检测工作液的制备**：使用前将试剂一加入试剂二中充分混匀，50℃水浴加热至充分溶解（密封以防止水分散失），冷却至室温后即为检测工作液，配制后建议-20℃分装保存，有效期三个月。

注：检测工作液若出现沉淀析出属正常现象，50℃水浴加热至完全溶解即可。

③在 96 孔 UV 板或微量石英比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	空白组 (μL)
粗酶液	20	-
蒸馏水	-	20
检测工作液	180	180

吸光值测定：①充分混匀并立即开始计时，测定 235 nm 处初始吸光值，记为 A1 测定和 A1 空白；②40℃恒温准确反应 30 min，测定 30 min 时 235 nm 处吸光值，记为 A2 测定和 A2 空白；③计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A2_{\text{测定}} - A1_{\text{测定}}$ ， $\Delta A_{\text{空白}} = A2_{\text{空白}} - A1_{\text{空白}}$ ， $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。注：空白组只需测定 1-2 次。

3. 果胶裂解酶 (PL) 活性计算

3.1 使用 96 孔板测定的计算公式

①按组织蛋白含量计算

单位定义：40℃ pH=5.5 条件下，每 mg 组织蛋白每分钟生成 1 nmol 不饱和半乳糖醛酸定义为一个酶活力单位。

$$PL \text{ (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}} \times T} = \frac{128.2 \times \Delta A}{C_{\text{pr}}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：40℃ pH=5.5 条件下，每 g 组织每分钟生成 1 nmol 不饱和半乳糖醛酸定义为一个酶活力单位。

$$PL \text{ (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{128.2 \times \Delta A}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：40℃ pH=5.5 条件下，每 10^4 个细胞或细胞每分钟生成 1 nmol 不饱和半乳糖醛酸定义为一个酶活力单位。

$$PL \text{ (U/} 10^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{128.2 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：40℃ pH=5.5 条件下，每 mL 液体样本每分钟生成 1 nmol 不饱和半乳糖醛酸定义为一个酶活力单位。

$$PL(U/mL) = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\varepsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times T} = 128.2 \times \Delta A$$

注释：V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.02 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应总体积，2×10⁻⁴ L；ε：不饱和半乳糖醛酸摩尔消光系数：5200 L/mol/cm；d₁：96 孔 UV 板光径，0.5 cm；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计；T：反应时间，30 min；10⁹：换算系数，1 mol=10⁹ nmol。

3.2 使用微量石英比色皿测定的计算公式

将 96 孔 UV 板光径（d₁=0.5 cm）改为微量石英比色皿光径（d₂=1 cm）进行计算即可。

四、注意事项

- ①若 A 测定大于 1.2 或 ΔA 大于 0.5 时，建议将粗酶液适当稀释后再进行测定，计算时相应修改；
- ②空白组为试剂组分质量检测孔，正常情况下变化不超过 0.02；
- ③准确在初始处和 30 min 处完成吸光值测定，以确保实验结果准确性和重复性；不建议一次性测定较多样品，以免造成各组间反应时间不一致情况；
- ④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.

