



α -L-阿拉伯呋喃糖苷酶 (α -L-Af) 活性检测试剂盒
 α -L-Arabinofuranosidase (α -L-Af) Activity Assay Kit



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



α-L-阿拉伯呋喃糖苷酶 (α-L-Af) 活性检测试剂盒

α-L-Arabinofuranosidase (α-L-Af) Activity Assay Kit

一、产品描述

阿拉伯糖是果实软化过程中变化最明显的细胞壁糖残基之一，α-L-阿拉伯呋喃糖苷酶是导致细胞壁多糖中阿拉伯糖残基降解的主要糖苷酶，能够从含有阿拉伯糖残基的多聚物如阿拉伯木聚糖、阿拉伯聚糖和阿拉伯半乳聚糖等的非还原末端水解生成一个 L-阿拉伯糖分子，在半纤维素降解以及果实的成熟软化过程中具有重要作用。

α-L-阿拉伯呋喃糖苷酶能够分解对硝基苯基-α-L-阿拉伯呋喃糖苷生成对-硝基苯酚，产物在 400 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征 α-L-阿拉伯呋喃糖苷酶的活性。

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	液体 100 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂一	粉剂×2 支	-20°C保存	使用前每瓶加入 1.37 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C可保存一周，避免反复冻融)
试剂二	液体 35 mL×1 瓶	4°C保存	-
标准液	液体 1 mL×1 支	4°C保存	5 μmol/mL 对硝基苯酚标准液

标准稀释液的制备：将 5 μmol/mL 对硝基苯酚标准液使用提取液稀释至 480、240、120、60、30、15 nmol/mL 即为标准稀释液。

序号	A	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度 (nmol/mL)	5000	1000	480	240	120	60	30
标准液体积 (μL)	200	480	500	500	500	500	500
提取液体积 (μL)	800	520	500	500	500	500	500
稀释后浓度 (nmol/mL)	1000	480	240	120	60	30	15

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿（光径 10 mm）/96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、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 15000 g离心10 min，取上清置于冰上待测。

②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 15000 g离心10 min，取上清置于冰上待测。

③培养液等液体样本：直接检测或适当稀释后再进行检测。

2.测定步骤

①分光光度计或酶标仪预热30 min以上，调节波长至400 nm，蒸馏水调零。

②在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μL)	对照管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
试剂一	40	-	-	-
粗酶液	60	60	-	-
标准稀释液	-	-	60	-
蒸馏水	-	40	40	100
充分混匀，37°C准确反应30 min				
试剂二	200	200	200	200

吸光值测定：吸取200 μL 反应液至96孔板或微量玻璃比色皿中，测定400 nm处吸光值，记为A测定、A对照、A标准和A空白；计算 ΔA 测定=A测定-A对照， ΔA 标准=A标准-A空白。注：每个样品均需设定一个对照管，空白管只需测定1-2次。

标准曲线的建立：以480、240、120、60、30、15 nmol/mL为横坐标(x)，以其对应的 ΔA 标准为纵坐标(y)，绘制标准曲线，得到线性回归方程 $y=kx+b$ ，将 ΔA 测定带入公式中得到x(nmol/mL)。

3. α -L-阿拉伯呋喃糖苷酶 (α -L-Af) 活性计算

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每mg组织蛋白每小时生成1 nmol对硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\alpha\text{-L-Af (U/mg prot)} = \frac{x \times V_{\text{提}}}{C_{\text{pr}} \times V_{\text{提}} \times T} = \frac{2 \times x}{C_{\text{pr}}}$$

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每小时生成 1 nmol 对硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\alpha\text{-L-Af (U/g)} = \frac{x \times V_{\text{提}}}{W \times T} = \frac{2 \times x}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每小时生成 1 nmol 对硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\alpha\text{-L-Af (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{x \times V_{\text{提}}}{\text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{2 \times x}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每小时生成 1 nmol 对硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\alpha\text{-L-Af (U/mL)} = \frac{x \times V_{\text{样}}}{V_{\text{样}} \times T} = 2 \times x$$

注释： V 提：粗酶液总体积，1 mL；V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.06 mL；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，0.5 h。

四、注意事项

- ①加入试剂二后应尽快完成吸光值测定；
- ②若测定吸光值超出标准吸光值线性范围：高于最高值建议将粗酶液适当稀释后再进行测定，低于最低值建议适当增加样本量或延长反应时间后再进行测定，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.

