



果胶甲基反式消除酶 (PMTE) 活性检测试剂盒
Pectin Methyltranseliminase (PMTE) Activity Assay Kit



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



果胶甲基反式消除酶（PMTE）活性检测试剂盒

Pectin Methyltranseliminase (PMTE) Activity Assay Kit

一、产品描述

果胶甲基反式消除酶可催化果胶的去甲基化反应，能够将甲基化位点上的甲基基团转化为羧基，通过对果胶的降解和修饰作用，直接影响果实成熟和果胶的功能，在植物生长发育、花器官发育、果实成熟软化、与病原微生物相互作用等生理过程中发挥着重要作用。

果胶甲基反式消除酶可催化果胶反应生成不饱和醛酸，产物在 232 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化速率即可表征果胶甲基反式消除酶的活性。

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	液体 20 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂二	液体 3 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂三	粉剂×1 瓶	4°C保存	使用前加入 2 mL 试剂一充分溶解 (60°C加热并剧烈振荡或超声以促进溶解)

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、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 万个细菌或细胞加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次），4°C 12000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③培养液等液体样本：直接测定或适当稀释后再进行测定，若样本浑浊需离心后取上清测定。

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 232 nm，蒸馏水调零。

②**检测工作液 A 的制备（现用现配）**：根据使用量按试剂一：试剂二：试剂三=16:4:1 体积比配制，充分混匀即为检测工作液 A，配制后 24 h 有效。

③**检测工作液 B 的制备（现用现配）**：根据使用量按试剂一：蒸馏水：试剂三=16:4:1 体积比配制，充分混匀即为检测工作液 B，配制后 24 h 有效。

④在 96 孔 UV 板或微量石英比色皿中依次加入下列试剂（避光条件下进行）：

试剂	测定组 (μL)	对照组 (μL)
粗酶液	20	20
检测工作液 A	180	-
检测工作液 B	-	180
充分混匀，30℃避光反应 30 min		

吸光值测定：测定 232 nm 处吸光值，记为 A 测定和 A 对照；计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。注：每个样品均需设一个对照组。

3.果胶甲基反式消除酶（PMTE）活性计算

3.1 使用 96 孔 UV 板测定的计算公式

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟生成 1 nmol 不饱和醛酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{PMTE (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}} \times T} = \frac{144.93 \times \Delta A}{C_{\text{pr}}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织样本每分钟生成 1 nmol 不饱和醛酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{PMTE (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{144.93 \times \Delta A}{W}$$

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生成 1 nmol 不饱和醛酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{PMTE (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{144.93 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟生成 1 nmol 不饱和醛酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{PMTE (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times T} = 144.93 \times \Delta A$$

3.2 使用微量石英比色皿测定的计算公式

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟生成 1 nmol 不饱和醛酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{PMTE (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{72.46 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织样本每分钟生成 1 nmol 不饱和醛酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{PMTE (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{72.46 \times \Delta A}{W}$$

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生成 1 nmol 不饱和醛酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{PMTE (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{72.46 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟生成 1 nmol 不饱和醛酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{PMTE (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times T} = 72.46 \times \Delta A$$

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：反应体系总体积， 2×10^{-4} L； ϵ ：不饱和醛酸摩尔消光系数， 4.6×10^3 L/mol/cm； d_1 ：96 孔 UV 板光径，0.5 cm； d_2 ：微量石英比色皿光径，1.0 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； 10^9 ：单位换算系数，1 mol/L = 10^9 nmol/L。

四、注意事项

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.

