



α -L-鼠李糖苷酶活性检测试剂盒（酸性条件）

α -L-Rhamnosidase Activity Assay Kit (Acid Conditions)



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



α -L-鼠李糖苷酶活性检测试剂盒（酸性条件） **α -L-Rhamnosidase Activity Assay Kit (Acid Conditions)****一、产品描述**

α -L-鼠李糖苷酶能够专一催化水解芦丁、橙皮苷和柚皮苷等黄酮苷类、烯萜类天然产物末端的 α -L-鼠李糖基， α -L-鼠李糖苷酶的最适 pH 值一般处于酸性或近中性范围。真菌来源的 α -L-鼠李糖苷酶多数偏好偏酸性的环境，最适 pH 值范围为 4.0-6.5，细菌来源的 α -L-鼠李糖苷酶多数偏好近中性或偏碱性的环境，最适 pH 范围为 5.0-8.0，本试剂盒适用于测定酸性环境下的 α -L-鼠李糖苷酶的活性。

α -L-鼠李糖苷酶能够在酸性条件下催化对硝基酚- α -鼠李糖苷（PNPR）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酸性 α -L-鼠李糖苷酶活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
试剂一	液体 70 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂二	粉剂×1 瓶	-20°C保存	使用前加入 13.4 mL 试剂一充分溶解 (分装后-20°C可保存一个月，避免反复冻融)
试剂三	液体 20 mL×1 瓶	4°C保存	-
标准液	液体 1 mL×1 支	4°C保存	5 μ mol/mL 对硝基苯酚标准液
标准应用液的制备（现用现配）：使用前将 5 μ mol/mL 对硝基苯酚标准液使用蒸馏水稀释 4 倍至 1.25 μ mol/mL 即为标准应用液。			

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：酶标仪、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组织：按照组织质量（g）：试剂一体积（mL）为 1：（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 试剂一）处理样品，冰浴匀浆，4°C 8000 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）：试剂一体积（mL）为（500-1000）：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 试剂一）处理样品，冰浴超声破碎（功率 200 W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次），4°C 8000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③培养液等液体样本：直接检测或使用试剂一适当稀释后再进行检测。

2.测定步骤

①酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 400 nm。

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)
粗酶液	10	10	-	-
试剂二	85	-	-	-
充分混匀，40°C准确反应 30 min				
标准应用液	-	-	10	-
蒸馏水	-	-	-	10
试剂一	-	-	85	85
试剂三	176	176	176	176
试剂二	-	85	-	-
充分混匀，室温静置 2 min				

吸光值测定：吸取 200 μL 反应液至 96 孔板中，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：每个样本均需设一个对照管，标准管和空白管只需测定 1-2 次。

3. α -L-鼠李糖苷酶活性计算

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟生成 1 μmol 对硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\alpha\text{-L-鼠李糖苷酶 (U/mg prot)} = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times D}{\Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{pr}} \times T} = \frac{0.0417 \times \Delta A_{\text{测定}}}{C_{\text{pr}} \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

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 μmol 对硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\alpha\text{-L-鼠李糖苷酶 (U/g)} = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{样总}} \times D}{\Delta A_{\text{标准}} \times W \times T} = \frac{0.0417 \times \Delta A_{\text{测定}}}{W \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

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 μmol 对硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\alpha\text{-L-鼠李糖苷酶 (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{样总}} \times D}{\Delta A_{\text{标准}} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{0.0417 \times \Delta A_{\text{测定}}}{\text{细菌或细胞数量} \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

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 μmol 对硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\alpha\text{-L-鼠李糖苷酶 (U/mL)} = \frac{C \text{ 标} \times \Delta A \text{ 测定} \times D}{\Delta A \text{ 标准} \times T} = \frac{0.0417 \times \Delta A \text{ 测定}}{\Delta A \text{ 标准}}$$

注释： C 标：标准应用液浓度，1.25 $\mu\text{mol/mL}$ ；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；T：反应时间，30 min；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；D：粗酶液稀释倍数，若未稀释则为 1。

四、注意事项

①若 A 测定或 ΔA 测定大于 1.0，建议将粗酶液使用**试剂一**适当稀释或缩短酶促反应时间（40°C 反应时间）后再进行测定；若 ΔA 测定小于 0.02，建议适当增加样本量或延长酶促反应时间（40°C 反应时间）后再进行测定，计算时相应修改；

②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.

