



α-L-阿拉伯呋喃糖苷酶活性检测试剂盒

α-L-Af Assay Kit

可见分光光度法

产品编号: AK396V

产品规格: 50T/24S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
ES396	50mL×1 瓶	4℃保存
AK396-A	粉剂×1 瓶	-20℃保存; 临用前加入 5mL 蒸馏水, 充分溶解备用; 剩余试剂-20℃保存
AK396-B	15mL×1 瓶	4℃保存
AK396-C	50mL×1 瓶	4℃保存
AK396-标准品	1mL×1 支	4℃保存

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

意义: α-L-阿拉伯呋喃糖苷酶 (α-L-Arabinofuranosidase, α-L-Af) 是一种能够水解非还原呋喃阿拉伯糖残基的糖苷酶类, 使细胞壁阿拉伯半乳聚糖、阿拉伯甘露聚糖等中性糖不断解离, 促进果胶的增溶和降解。由于果实成熟过程中常常伴随着阿拉伯糖的丧失, 该酶活性在果实成熟软化中的研究具有重大意义。

原理: α-L-Af 分解对硝基酚阿拉伯呋喃糖苷生成对-硝基苯酚, 后者在 400nm 有最大吸收峰, 通过测定吸光值升高速率来计算α-L-Af 活性。

自备用品:

可见分光光度计、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

粗酶液提取:

1. 细菌或培养细胞: 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 按照细菌或细胞数量 (10^4 个): ES396 体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1mL ES396), 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 20% 或 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 15000g 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
2. 组织: 按照组织质量 (g): ES396 体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL ES396), 进行冰浴匀浆。15000g 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

测定步骤:

1. 分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 400nm, 蒸馏水调零。
2. 将 5 μmol/mL 的对-硝基苯酚标准液用提取液稀释为 2.5、2、1.5、1、0.5、0.25、0.1 μmol/mL 的标准溶液备用。
3. 样本测定 (在 EP 管中依次加入下列试剂):

试剂名称	对照管 (μL)	测定管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
AK396-A		200		
蒸馏水	200		550	600
AK396-B	250	250		
样本	50	50		
标准溶液			50	
迅速混匀, 放入 37℃保温 30min				
AK396-C	1000	1000	1000	1000

充分混匀，400nm 处测定吸光值 A，分别记为 A 对照管、A 测定管、A 标准管、A 空白管。
 计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。每个测定管需设一个对照管，
 标准曲线只需检测 1-2 次。

α -L-Af 活性计算：

1. 标准曲线的绘制：以各个标准溶液的浓度为 x 轴，其对应的 ΔA 标准为 y 轴，绘制标准曲线，得到标准方程 $y = kx + b$ ，将 ΔA 带入方程得到 x (nmol/mL)。

2. α -L-Af 活性的计算：

- (1) 按蛋白浓度计算

酶活定义：每 mg 蛋白每小时产生 1 nmol 对-硝基苯酚为 1 个酶活力单位。

$$\alpha\text{-L-Af 酶活 (U/mg prot)} = x \times V_{\text{提取}} \div (V_{\text{提取}} \times \text{Cpr}) \div T = 2x \div \text{Cpr}$$

- (2) 按样本质量计算

酶活定义：每 g 样本每小时产生 1 nmol 对-硝基苯酚为 1 个酶活力单位。

$$\alpha\text{-L-Af 酶活 (U/g 质量)} = x \times V_{\text{提取}} \div W \div T = 2x \div W$$

- (3) 按照细胞或细菌数量计算

酶活定义：每 10⁴ 个细胞每小时产生 1 nmol 对-硝基苯酚为 1 个酶活力单位。

$$\alpha\text{-L-Af 酶活 (U/10^4 cell)} = x \times V_{\text{提取}} \div \text{细胞数量 (万个)} \div T = 2x \div \text{细胞数量 (万个)}$$

- (4) 按液体体积计算

酶活定义：每 mL 样本每小时产生 1 nmol 对-硝基苯酚为 1 个酶活力单位。

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

V 提取：提取液体积，1 mL；V 样：加入的样本体积，0.06 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL，蛋白浓度自行测定；W：样本质量，g；T：反应时间，30 min。

※ 蛋白定量检测建议使用本公司：BCA Protein Assay Kit ([C05-02001](#))