

Arylamidase Activity Assay Kit

芳基酰胺酶活性测定试剂盒说明书

货号: G0433W | 方法: 微板法 | 规格: 96 样

一、产品简介:

芳基酰胺酶(aryl-acylamidase) (EC 3. 5. 1.3), 广泛存在于动物、植物、微生物中, 可水解带有酰胺基团的化合物, 是生物体内农药及其他外源物质的重要水解酶之一。

本试剂盒采用芳基酰胺酶水解底物产生对硝基苯胺, 在波长 405nm 处有最大吸收峰, 通过检测生成的产物对硝基苯胺在 405nm 处的增长速率即可得出该酶活性大小。

二、测试盒组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 125mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	液体 4mL×1 支	4℃保存	
标准品	粉体 mg×1 支	4℃保存	若要重新做标曲则用到该试剂。

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、离心机、可调式移液器、研钵、乙醇、冰和蒸馏水。

四、芳基酰胺酶活性测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备:

① 组织样本: 称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 试剂一, 进行冰浴匀浆。4℃×12000rpm 离心 15min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照组织质量(g): 提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例进行提取。

② 细菌/细胞样本: 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 取约 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液, 超声波破碎细菌或细胞(冰浴, 功率 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 12000rpm 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照细菌/细胞数量(10^4): 提取液(mL)为 500~1000: 1 的比例进行提取。

③ 液体样本: 直接检测; 若浑浊, 离心后取上清检测。

2、上机检测:

① 酶标仪预热 30 min 以上, 调节波长到 405nm。

② 所有试剂解冻至室温(25℃)。

③ 为了减少操作误差, 建议使用排枪。

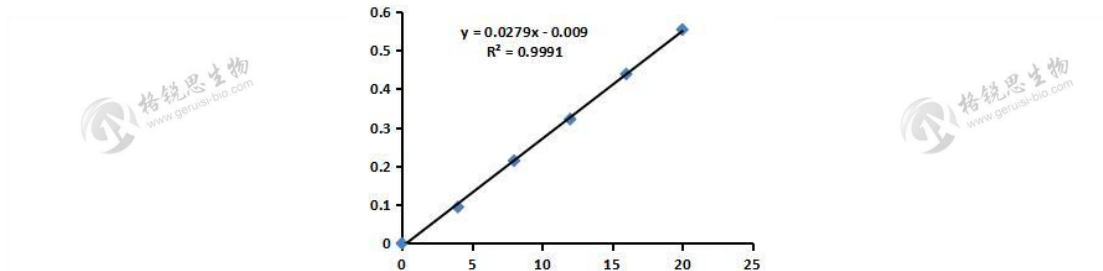
④ 依次在 96 孔板中加入:

试剂名称 (μL)	测定管
试剂一	120
样本	40
试剂二	40
混匀, 立即于 405nm 处读取 A1 值, 37℃反应 30min 后读取 A2 值。ΔA=A2-A1。	

注意: 本操作流程适用于绝大多数常规样本检测, 实验条件可根据实际样本状态适度微调; 针对特殊类型样本, 我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、标准曲线： $y = 0.0279x - 0.009$ ；x 为标准品(nmoL)，y 为 ΔA 。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

2、按样本鲜重计算：

单位定义：在 37°C，每克组织每分钟催化产生 1nmol 标准品定义为一个酶活单位（U）。

芳基酰胺酶(nmol/min/g 鲜重)=[$(\Delta A + 0.009) \div 0.0279$] $\div (W \times V1 \div V) \div T = 29.87 \times (\Delta A + 0.009) \div W$

3、按样本蛋白浓度计算：

单位定义：在 37°C，每毫克组织蛋白每分钟催化产生 1nmol 标准品定义为一个酶活单位(U)。

芳基酰胺酶(nmol/min/mg prot)=[$(\Delta A + 0.009) \div 0.0279$] $\div (V1 \times Cpr) \div T = 29.87 \times (\Delta A + 0.009) \div Cpr$

4、按细胞数量计算：

酶活定义：在 37°C，每 10⁴ 个细胞每分钟催化产生 1nmol 标准品定义为一个酶活单位（U）。

芳基酰胺酶(nmol/min/10⁴ cell)=[$(\Delta A + 0.009) \div 0.0279$] $\div (500 \times V1 \div V) \div T = 0.06 \times (\Delta A + 0.009)$

5、按照液体体积计算：

单位定义：在 37°C，每毫升液体每分钟催化产生 1nmol 标准品定义为一个酶活单位（U）。

芳基酰胺酶(nmol/min/mL)=[$(\Delta A + 0.009) \div 0.0279$] $\div V1 \div T = 29.87 \times (\Delta A + 0.009)$

V---加入提取液体积，1 mL；

V1---加入样本体积，0.04mL；

T---反应时间，30min；

W---样本质量，g；

500---细胞数量，万；

Cpr---样本蛋白质浓度，mg/mL，建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。