

α -L-rhamnosidase Activity Kit

α -L-鼠李糖苷酶活性测定试剂盒说明书

货号: G0580F | 方法: 可见分光法 | 规格: 24 样

一、产品简介:

α -L-鼠李糖苷酶 (α -L-rhamnosidase, EC 3.2.1.40) 是一种水解酶, 可以水解人们日常饮食中常见的黄酮苷类化合物。该酶广泛分布于自然界的细菌和真菌等生物中。它在工业上具有许多潜在的应用价值。

本试剂盒采用对硝基酚- α -鼠李糖苷(PNPR)作为底物, 生成黄色的对硝基苯酚(PNP), 该产物在 405nm 处有最大吸收峰。通过检测 PNP 在 405nm 下的增加速率, 即可得到 α -L-鼠李糖苷酶活性的大小。

二、试剂盒的组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 30mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉剂 mg×1 支	-20℃保存	临用前甩几下或离心使试剂落入底部, 再加 2.2mL 蒸馏水溶解混匀, 若难溶解可超声溶解。
试剂二	液体 20mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	液体 20mL×1 瓶	4℃保存	
标准品	粉剂 mg×1 支	4℃保存	若重新做标曲, 则用到该试剂。

三、所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm)、低温离心机、水浴锅、可调式移液器、恒温培养箱、研钵、蒸馏水。

四、 α -L-鼠李糖苷酶活性测定:

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: 取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆, 4℃×12000rpm 离心 15min, 取上清液待测。

【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: 可直接测定, 或者适当稀释后测定。若浑浊, 离心后取上清检测。

2、上机检测:

① 可见分光光度计预热 30 min, 调节波长为 405nm, 蒸馏水调零。

② 所有试剂于 40℃水浴中预热 20 min。

③ 在 1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm) 中依次加入下列试剂:

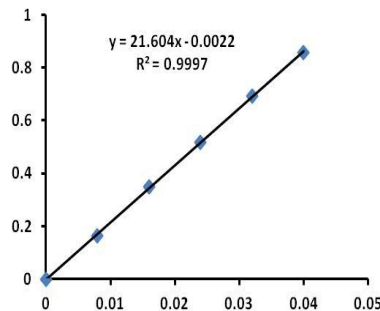
试剂名称 (μ L)	测定管	对照管
样本	40	40
试剂一	80	
试剂二	280	360

迅速混匀，40℃保温 20min		
试剂三	400	400
混匀，液体全部转移至 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中，立即于 405nm 下读取吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ （每个测定管需设一个对照管）。		

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： $y = 21.604x - 0.0022$ ，x 是标准品（PNP）摩尔质量： μmol ；y 是 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、按照样本质量计算：

酶活定义：在 40℃下，每克组织每小时水解 $1\mu\text{mol}$ PNPR 产生 PNP 定义为 1 个酶活单位。

$$\alpha\text{-L-鼠李糖苷酶}(\mu\text{mol/h/g 鲜重}) = [(\Delta A + 0.0022) \div 21.604] \div (W \times V1 \div V) \div T \times D$$

$$= 3.47 \times (\Delta A + 0.0022) \div W \times D$$

3、按照样本蛋白浓度计算：

酶活定义：在 40℃下，每毫克蛋白每小时水解 $1\mu\text{mol}$ PNPP 产生 PNP 定义为 1 个酶活单位。

$$\alpha\text{-L-鼠李糖苷酶}(\mu\text{mol/h/mg prot}) = [(\Delta A + 0.0022) \div 21.604] \div (Cpr \times V1) \div T \times D$$

$$= 3.47 \times (\Delta A + 0.0022) \div Cpr \times D$$

4、按细胞数量计算：

酶活定义：在 40℃下，每 10^4 个细胞每小时水解 $1\mu\text{mol}$ PNPP 产生 PNP 定义为 1 酶活单位。

$$\alpha\text{-L-鼠李糖苷酶}(\mu\text{mol/h}/10^4 \text{ cell}) = [(\Delta A + 0.0022) \div 21.604] \div (500 \times V1) \div T \times D$$

$$= 0.007 \times (\Delta A + 0.0022) \times D$$

5、按液体体积计算：

酶活定义：在 40℃下，每毫升液体每小时水解 $1\mu\text{mol}$ PNPP 产生 PNP 定义为 1 个酶活单位。

$$\alpha\text{-L-鼠李糖苷酶}(\mu\text{mol/h/mL}) = [(\Delta A + 0.0022) \div 21.604] \div V1 \div T \times D = 3.47 \times (\Delta A + 0.0022)$$

W---样品质量，g；

V---提取液体积，1 mL；

V1---上清液体积 (mL)，0.04mL；

T---反应时间，20 min=1/3h；

D---稀释倍数，未稀释即为 1；

Cpr---上清液蛋白质浓度，mg/mL；建议使用本公司的 BCA 蛋白质含量测定试剂盒。