

## $\alpha$ -L-Arabinofuranosidase Assay Kit

### $\alpha$ -L-阿拉伯呋喃糖苷酶( $\alpha$ -Afa)试剂盒说明书

货号: G0714F | 方法: 可见分光法 | 规格: 24 样

#### 一、产品简介:

$\alpha$ -L-阿拉伯呋喃糖苷酶 ( $\alpha$ -Afa, EC 3.2.1.55) 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。

本试剂盒提供一种简单, 灵敏, 快速的测定方法,  $\alpha$ -Afa分解对-硝基苯阿拉伯呋喃糖苷生成对-硝基苯酚, 后者在405nm有最大吸收峰, 通过测定吸光值升高速率即可得出 $\alpha$ -Afa酶活性大小。

#### 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°C保存	
试剂一	粉体 mg×1 支	-20°C保存	临用前甩几下使所有粉体都落入管底, 加 2mL 蒸馏水溶解。
试剂二	液体 27mL×1 瓶	4°C保存	
标准品	粉体 mg×1 支	4°C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)、低温台式离心机、水浴锅、研钵

#### 四、 $\alpha$ -L-阿拉伯呋喃糖苷酶 ( $\alpha$ -Afa) 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 0.2g 组织 (水分充足的样本取 0.5g), 加入 1mL 提取液, 冰浴匀浆, 然后 12000rpm, 4°C, 离心 10min, 取上清作为粗体液, 置于冰上待测。

【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 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 可见分光光度计预热 30min 以上, 温度设定 37°C, 波长设定为 405nm, 蒸馏水调零。

② 所有试剂解冻至室温 (25°C)。

③ 在 EP 管中依次加入:

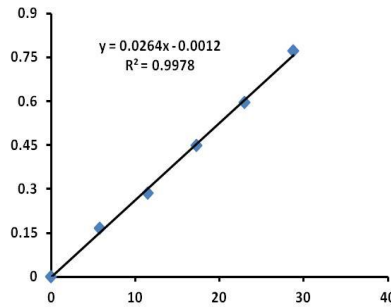
试剂名称 ( $\mu$ L)	测定管	对照管
样本	40	40
试剂一	75	
蒸馏水		75
提取液	115	115
迅速混匀, 37°C保温 30min		
试剂二	540	540
混匀, 全部液体转移至 1mL 玻璃比色皿中, 于 405nm 处测定吸光 A,		

$\Delta A = A$  测定 - A 对照 (每个样本需设一个对照管)。

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、标准曲线方程为  $y = 0.0264x - 0.0012$ ；x 为标准品摩尔质量 (nmol)，y 为  $\Delta A$ 。



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、按样本蛋白浓度计算：

单位的定义：每毫克组织蛋白每分钟产生 1nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活性单位。

$$\begin{aligned} \alpha\text{-Afa 活性}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mg prot}) &= [(\Delta A + 0.0012) \div 0.0264] \div (V1 \times \text{Cpr}) \div T \\ &= 31.57 \times (\Delta A + 0.0012) \div \text{Cpr} \end{aligned}$$

3、按样本鲜重计算：

单位的定义：每克组织每分钟产生 1nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活性单位。

$$\begin{aligned} \alpha\text{-Afa 活性}(\text{nmol}/\text{min}/\text{g 鲜重}) &= [(\Delta A + 0.0012) \div 0.0264] \div (W \times V1 \div V) \div T \\ &= 31.57 \times (\Delta A + 0.0012) \div W \end{aligned}$$

V---加入提取液体积，1mL；

V1---加入反应体系中样本体积，0.04mL；

W---样本质量，g；

T---反应时间，30min；

PNP 对分子质量----139.11

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。