

# 阿魏酸酯酶(FAE)试剂盒-340nm(紫外法)

产品货号: BA3411

产品规格: 48样/96样

#### 产品简介:

阿魏酸酯酶(FAE, EC 3.1.1.73)又称肉桂酸酯酶或肉桂酸水解酶,是一种胞外羧酸酯酶,阿魏酸酯酶主要降解细胞壁多糖或果胶中阿拉伯糖或半乳糖或羟基肉桂酸之间的酯键。

阿魏酸酯酶(FAE) 催化底物阿魏酸甲酯分解,通过检测阿魏酸甲酯于340nm的下降速率即可得出阿魏酸酯酶(FAE)酶活力大小。

反应方程式: feruloyl-polysaccharide+H2O=ferulate+polysaccharide。

#### 产品内容:

产品名称	48样	96样	保存条件	使用说明及注意事项
提取液	液体60mL×1瓶	液体120mL×1瓶	2-8°C	-
试剂一	液体30mL×1瓶	液体60mL×1瓶	2-8°C	-
试剂二	粉剂×1瓶	粉剂×2瓶	2-8℃,避光	临用前每瓶加4mL无水乙醇混匀溶解;
标准品	粉剂×1支	粉剂×1支	2-8℃,避光	<ol> <li>若重新做标曲,则用到该试剂;</li> <li>按照说明书中标曲制作步骤进行配制;</li> <li>溶解后的标品一周内用完。</li> </ol>

#### 实验器材:

研钵(匀浆机)、冰盒(制冰机)、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅(烘箱、培养箱、金属浴)、1mL 石英比色皿、离心管、紫外分光光度计、蒸馏水(去离子水、超纯水均可)。

### 指标测定:

建议先选取1-3个差异大的样本(例如不同类型或分组)进行预实验,熟悉操作流程,根据预实验结果确定或调整样本浓度,以防造成样本或试剂不必要的浪费!

- 1. 样本提取:
- (1) 组织样本: 取约 0.1g 组织(水分充足的样本可取 0.5g),加入 1mL 提取液,进行冰浴匀浆, $4^{\circ}C \times 12000rpm$  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) 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。
- (3) 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°C 离心 10min,取上清,置冰待测。

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

- 2. 检测步骤:
- (1) 紫外分光光度计预热 30min (等仪器过自检程序亦可),调节波长为 340nm,蒸馏水调零。
- (2) 所有试剂于 25°C 水浴中预热 10min。
- (3) 在 1mL 石英比色皿(光径 1cm)中依次加入下列试剂:

试剂组分(μL)	测定管		
样本	150		
试剂一	500		





	试剂二	50	
匀.	立即于340nm 办诗	题 股光值 A1.	40°C孵育

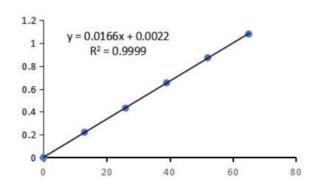
混匀, 立即于340nm处读取吸光值A1, 40°C孵育 30min后读取A2。ΔA=A1-A2。

注:① 若ΔA的值非常低在零附近,可增加样本量V1(如增至250 $\mu$ L,则试剂一相应减少)或延长反应时间 T(如增至60 $\mu$ min或更长),则重新调整的V1和T代入公式重新计算。

② 若A1的值超过2,可减少样本量V1(如减至100µL,则试剂一相应增加),则调整后的V1代入公式重新计算。

#### 结果计算:

1. 标准曲线: y = 0.0166x + 0.0022, x是标准品摩尔质量(nmol); y是 $\Delta A$ 。



2. 按照样本质量计算:

酶活定义:每克组织每分钟水解1nmol底物阿魏酸甲酯定义为一个酶活单位。

FAE (nmol/min/g 鲜重)= $[(\Delta A-0.0022)\div 0.0166]\div (W\times V1\div V)\div T=13.39\times (\Delta A-0.0022)\div W$ 

3. 按照样本蛋白浓度计算:

酶活定义:每毫克蛋白每分钟水解1nmol底物阿魏酸甲酯定义为一个酶活单位。

FAE (nmol/min/mg prot)= $[(\Delta A-0.0022)\div 0.0166]\div (Cpr\times V1)\div T=13.39\times (\Delta A-0.0022)\div Cpr$ 

4. 按液体体积计算:

酶活定义:每毫升液体每分钟水解1nmol底物阿魏酸甲酯定义为一个酶活单位。

 $FAE(nmol/min/mL) = [(\Delta A - 0.0022) \div 0.0166] \div V1 \div T = 13.39 \times (\Delta A - 0.0022)$ 

5. 按细菌/细胞数量计算:

酶活定义:每10<sup>4</sup>个细胞每分钟水解1nmol底物阿魏酸甲酯定义为一个酶活单位。

FAE (nmol/min/10<sup>4</sup> cell)= $[(\Delta A-0.0022)\div0.0166]\div(500\times V1\div V)\div T=0.0268\times(\Delta A-0.0022)$ 

W---样品质量, g; V---提取液体积, 1mL;

V1---上清液体积(mL), 0.15mL; T---反应时间, 30min。

500---细胞数量,万;

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。

## 附:标准曲线制作过程:

- 1. 标曲为非必做实验,用户可根据实验需求制作标曲,亦可直接采用说明书计算公式进行结果计算。
- 2. 制备标准品母液(10μmol/mL): 向标准品EP管里面加入1ml乙醇溶解。
- 3. 将母液用乙醇稀释成六个浓度梯度的标准品,例如: 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 μmol/ml。也可根据实际样本调整标准品浓度。
- 4. 标品稀释参照表如下:

吸取标准品母液100uL,加入1.9mL乙醇,			混匀得到0.5µmol/ml的标品稀释液待用			
标品浓度 μmol/ml	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5





标品稀释液 uL	0	40	80	120	160	200
乙醇 uL	200	160	120	80	40	0
各标准管混匀待用。						

5. 依据测定管的加样表操作,根据结果,以各浓度吸光值减去0浓度吸光值,过0点制作标准曲线。在EP 管中依次加入下列试剂:

试剂组分(μL)	标准管	0 浓度管(仅做一次)
标品	150	
乙醇		150
试剂一	550	550

混匀,立即于340nm处读取吸光值A1,40°C孵育30min后读取A2。  $\Delta A$ =标准管(A1-A2)-0浓度管(A1-A2)。