

芳基酰胺酶活性测定试剂盒

[分光法 48 样](#)

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。

试剂盒组成和配制：

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	液体 8mL×1 支	4℃保存	
试剂二	粉体 mg×1 支	4℃保存	若要重新做标曲则用到该试剂。

所需的仪器和用品：

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、

研钵、乙醇、冰和蒸馏水。

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（水分充足的样本可取 0.5g），加入 1mL 提取液，进行冰浴匀浆。

4°C×12000rpm 离心 10min，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°C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 可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 405nm，蒸馏水调零。

② 所有试剂解冻至室温（25°C）。

③ 在 1mL 玻璃比色皿中依次加入：

试剂名称（ μL ）	测定管
试剂一	480
样本	160
试剂二	160
混匀，立即于 405nm 处读取 A1 值，37°C 反应 30min 后读取 A2 值。 $\Delta A=A2-A1$ 。	

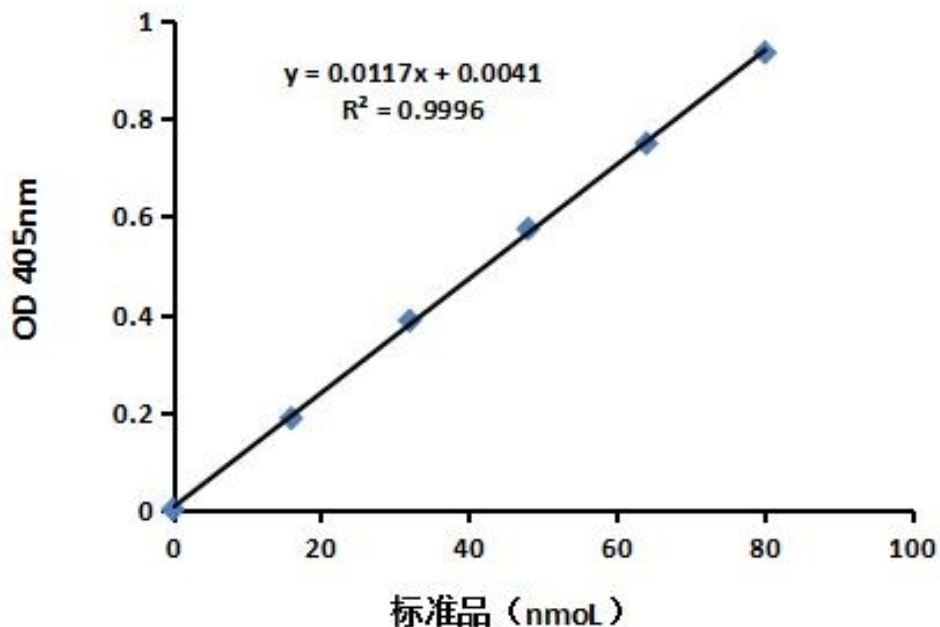
[注]: 1. 加完试剂二即启动反应，所以试剂二加完混匀后立即检测，若 A2 值大于 1.5，可对样本进行稀释，稀释倍数需代入公式重新计算。

2. 若 ΔA 小于 0.005，可增大样本量 V1（如增至 320 μ L，试剂一相应减少），则改变后的 V1 需代入公式重新计算。

结果计算：

1、标准曲线：

$y = 0.0117x + 0.0041$ ：x 为标准品(nmol)，y 为 ΔA 。



2、按样本鲜重计算：

酶活定义：在 37 $^{\circ}$ 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)=[$(\Delta A - 0.0041) \div 0.0117$] \div (W \times V1 \div V) \div T

=17.806 \times ($\Delta A - 0.0041$) \div W

3、按样本蛋白浓度计算：

酶活定义：在 37 $^{\circ}$ 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)。

$$\begin{aligned} \text{芳基酰胺酶(nmol/min/mg prot)} &= [(\Delta A - 0.0041) \div 0.0117] \div (V1 \times Cpr) \div T \\ &= 17.806 \times (\Delta A - 0.0041) \div Cpr \end{aligned}$$

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)。

$$\text{芳基酰胺酶(nmol/min/10}^4\text{cell)} = [(\Delta A - 0.0041) \div 0.0117] \div (500 \times V1 \div V) \div T = 0.0356 \times (\Delta A - 0.0041)$$

5、按照液体体积计算：

酶活定义：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)。

$$\text{芳基酰胺酶(nmol/min/mL)} = [(\Delta A - 0.0041) \div 0.0117] \div V1 \div T = 17.806 \times (\Delta A - 0.0041)$$

V---加入提取液体积，1 mL； V1---加入样本体积，0.16mL；

T---反应时间，30min； W---样本质量，g；

500---细胞数量；

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。

附：标准曲线制作过程：

1. 制备标准品母液 (10 μ mol/mL)：临用前甩几下或离心，使粉体落入底部，加入 0.1mL 乙醇，涡旋震荡溶解后再加入 0.9mL 的蒸馏水混匀，得到 10 μ mol/mL 备用。
2. 用蒸馏水把母液稀释成以下浓度：0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 μ mol/mL。也可根据实际来调整浓度。
3. 160 μ L 标准品+640 μ L 试剂一，混匀后于 405nm 处读取 A 值，依据结果即可制作标

准曲线。