果胶甲酯酶（pectinesterase，PE）试剂盒说明书

（48样）

一、产品简介：

果胶甲酯酶，属果胶酶系，亦称果胶酯酶、果胶氧化酶。催化水解果胶长链上的甲氧酯水解产生小分子物质果胶酸和甲醇, 从而增加果胶在水中的溶解度。广泛存在于高等植物和可以降解细胞壁的细菌和真菌中，起内源调控植物细胞壁上及细胞之间果胶含量的作用。

果胶甲酯酶（PE）催化水解果胶分子释放H+，使反应体系的pH下降，用碱液维持体系的pH始终保持在7.8(酚酞指示剂维持在粉红色)，通过碱消耗的NaOH 量反映果胶甲酯酶的活性。

二、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 80mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉剂 mg×5 瓶	4℃保存	临用前甩几下使粉体落入底部，再加 50mL 蒸馏水于瓶中，混匀后于 60℃加热溶解（中间可手动摇匀几次）。
试剂二	粉剂 mg×1 支	4℃保存	临用前甩几下使粉剂落入底部，再加 1.5mL 乙醇溶解备用。
试剂三	液体 45mL×1 瓶	4℃保存	
试剂四	液体 25mL×1 瓶	4℃保存	

三、所需仪器和用品：

天平、研钵、离心机、水浴锅或恒温培养箱。

四、果胶甲酯酶（PE）的测定：

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 0.5g 组织样品（叶片类样本可取 0.15g），加 1.5mL 提取液冰浴研磨，12000rpm、4℃离心 15min，取全部上清液待测。

【注】：若酶活力太高，可降低样本取样质量W或将上清液稀释2-5倍后再进行测定，并在计算公式中乘以稀释倍数D。

② 细菌/培养细胞：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 1.5mL 提取液，超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 20%或 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，可按照细菌或细胞数量（10^4 个）：提取液体积（mL）为 500：1 的比例进行提取。

2、上机检测：

① 试剂一于37℃烘箱保温10min。

② 取出1mL的上清液转移至离心管或试管中。

③ 向离心管或试管中依次加25μL 试剂二，4mL试剂一，混匀，并用试剂三调pH至7.8（粉红色）。

④ 将离心管或试管于37℃（水浴锅或恒温培养箱）孵育60min。每隔20分钟用试剂四调节pH，使其维持在7.8（粉红色）。同时记录所消耗的试剂四的体积V2（mL）。

五、结果计算：

1、按照样本质量计算：

酶活定义：每克组织每小时消耗1μmol NaOH 定义为一个酶活单位U。

PE 活性(μmoL/h/g)=20×V2÷(V1÷V×W) ÷T×D =30×V2÷W×D

2、按照蛋白浓度计算：

酶活定义：每毫克蛋白每小时消耗1μmol NaOH 定义为一个酶活单位U。

PE 活性(μmoL/h/mg prot)=20×V2÷(V1÷V×Cpr)÷T×D =30×V2÷Cpr×D

3、按细菌/细胞密度计算：

酶活定义：每 1 万个细菌或细胞每小时消耗 1μmol NaOH 定义为一个酶活单位 U。

PE 活性(μmoL/h/10^4 cell)=20×V2÷(V1÷V×500)÷T×D =0.06×V2×D

V1---加入离心管或试管中的上清液体积，1mL； V---提取液体积，1.5mL；

V2---滴定所消耗的试剂四的量，mL； T---反应时间，60 min=1h；

D---样品稀释倍数； W---样品质量，g；20---试剂四的NaOH 浓度，20μmol/mL；

500---细菌或细胞总数，500 万；

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