



**$\alpha$ -甘露糖苷酶 ( $\alpha$ -Man) 活性检测试剂盒**  
 **$\alpha$ -Mannosidase ( $\alpha$ -Man) Activity Assay kit**

**4-Nitrophenyl  $\alpha$ -D-Mannopyranoside**

**$\alpha$ -Mannosidase ( $\alpha$ -Man)**

**P-Nitrophenol**

北京盒子生工科技有限公司  
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



## α-甘露糖苷酶 (α-Man) 活性检测试剂盒

### α-Mannosidase (α-Man) Activity Assay kit

#### 一、产品描述

α-甘露糖苷酶 (α-Man) 广泛存在于动物、植物、微生物中，主要参与蛋白质糖基化和糖蛋白聚糖结构的水解修饰，可催化甘露糖苷末端非还原性 α-D-甘露糖残基水解，在植物分生组织的生长、果实的成熟软化、种子的萌发等生理进程中起着重要作用，并在食品、造纸和医药等领域具有广泛应用。

α-甘露糖苷酶能够分解 4-硝基苯-α-D-甘露糖糖苷生成对-硝基苯酚，产物在 405 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征 α-甘露糖苷酶的活性。

#### 二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
提取液	液体 110 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 15 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	粉剂×2 支	-20°C 保存	使用前每支加入 500 μL 试剂四充分溶解 (分装后-20°C可保存一个月，避免反复冻融)
试剂三	液体 8 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂四	液体 1.5 mL×1 瓶	4°C 保存	-
标准液	液体 1 mL×1 支	4°C 保存	5 μmol/mL 对硝基苯酚标准液
标准稀释液的制备：将 5 μmol/mL 对硝基苯酚标准液使用蒸馏水稀释至 0.6、0.3、0.16、0.08、0.04、0.02、0.01 μmol/mL 即为标准稀释液。			

序号	A	1	2	3	4	5	6	7
稀释前浓度 (μmol/mL)	5.0	1.0	1.0	1.0	0.16	0.08	0.04	0.02
标准液体积 (μL)	200	300	150	160	200	200	200	200
蒸馏水体积 (μL)	800	200	350	840	200	200	200	200
稀释后浓度 (μmol/mL)	1.0	0.6	0.3	0.16	0.08	0.04	0.02	0.01

### 三、产品使用说明

**测定过程中所需要的仪器和试剂：**可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿（光径 10 mm）/96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

#### 1.粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①**细菌或细胞：**离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量( $10^4$ 个):蒸馏水体积(mL)为 (500-1000) :1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 蒸馏水）处理样品，冰浴超声破碎（功率 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 3 min），4°C 12000 g 离心 10 min，取上清液置于冰上待测。

②**组织：**按照组织质量 (g): 蒸馏水体积 (mL) 为 1: (5-10) 的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 蒸馏水）处理样品，研磨至匀浆，4°C 12000 g 离心 10 min，取上清液置于冰上待测。

③**血清（浆）、培养液等液体样本：**直接测定或适当稀释后再进行测定。

#### 2.测定步骤

①分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 405 nm，蒸馏水调零。

②在 96 孔板或离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 ( $\mu\text{L}$ )	对照组 ( $\mu\text{L}$ )	标准组 ( $\mu\text{L}$ )	空白组 ( $\mu\text{L}$ )
粗酶液	25	25	-	-
标准稀释液	-	-	25	-
蒸馏水	-	-	-	25
试剂一	110	125	125	125
试剂二	15	-	-	-
充分混匀，37°C准确反应 10 min				
试剂三	50	50	50	50

**吸光值测定：**测定 405 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白；计算  $\Delta A$  测定=A 测定-A 对照， $\Delta A$  标准=A 标准-A 空白。注：每个样品均需设一个对照组，空白组只需测定 1-2 次。

**标准曲线的建立：**以 0.6、0.3、0.16、0.08、0.04、0.02、0.01  $\mu\text{mol/mL}$  标准稀释液浓度为横坐标 (x)，以其对应的  $\Delta A$  标准为纵坐标 (y)，绘制标准曲线，得到标准方程  $y=kx+b$ ，将  $\Delta A$  测定带入公式中得到 x ( $\mu\text{mol/mL}$ )。

### 3. $\alpha$ -甘露糖苷酶 ( $\alpha$ -Man) 活性计算

#### ①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟生成 1  $\mu\text{mol}$  对硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\alpha\text{-Man (U/mg prot)} = \frac{x \times V_{\text{样}}}{\text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{0.1 \times x}{\text{Cpr}}$$

#### ②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟生成 1  $\mu\text{mol}$  对硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\alpha\text{-Man (U/g)} = \frac{x \times V_{\text{样总}}}{W \times T} = \frac{0.1 \times x}{W}$$

#### ③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每  $10^4$  个细菌或细胞每分钟生成 1  $\mu\text{mol}$  对硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\alpha\text{-Man (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{x \times V_{\text{样总}}}{\text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{0.1 \times x}{\text{细菌或细胞数量}}$$

#### ④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟生成 1  $\mu\text{mol}$  对硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\alpha\text{-Man (U/mL)} = \frac{x \times V_{\text{样}}}{V_{\text{样}} \times T} = 0.1 \times x$$

**注释：** V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.125 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计；T：反应时间，10 min。

### 四、注意事项

①若测定吸光值超出标准吸光值线性范围：高于最高值建议将粗酶液适当稀释后再进行测定，低于最低值建议适当增加样本量或延长酶促反应时间后再进行测定，计算时相应修改；

②为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

**For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.**

