

- ( -Mannosidase, -Man)

48

\_\_\_\_\_ :

- EC 3.2.1.24, -Man N-

- ( -Man) - -D- (PNP)

405nm

405nm

-

\_\_\_\_\_ :

提取液	液体 60mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉剂 mg×1 支	4℃保存	用前甩几下使试剂落入底部, 再加 1.1mL 蒸馏水超声溶解备用。
试剂二	液体 10mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	液体 10mL×1 瓶	4℃保存	
标准品	粉剂×1 支	4℃保存	若重新做标曲, 则用到该试剂。

\_\_\_\_\_ :

- Man :

2

1 \_\_\_\_\_

0.1g 0.5g 1mL  
12000rpm 4 10min  
[ ] (g) (mL) 1 5~10

500 1mL  
20 200W 3s 10s 30  
12000rpm 4 10min  
[ ] (10<sup>4</sup>) (mL) 500~1000 1

2 \_\_\_\_\_

30min 405nm

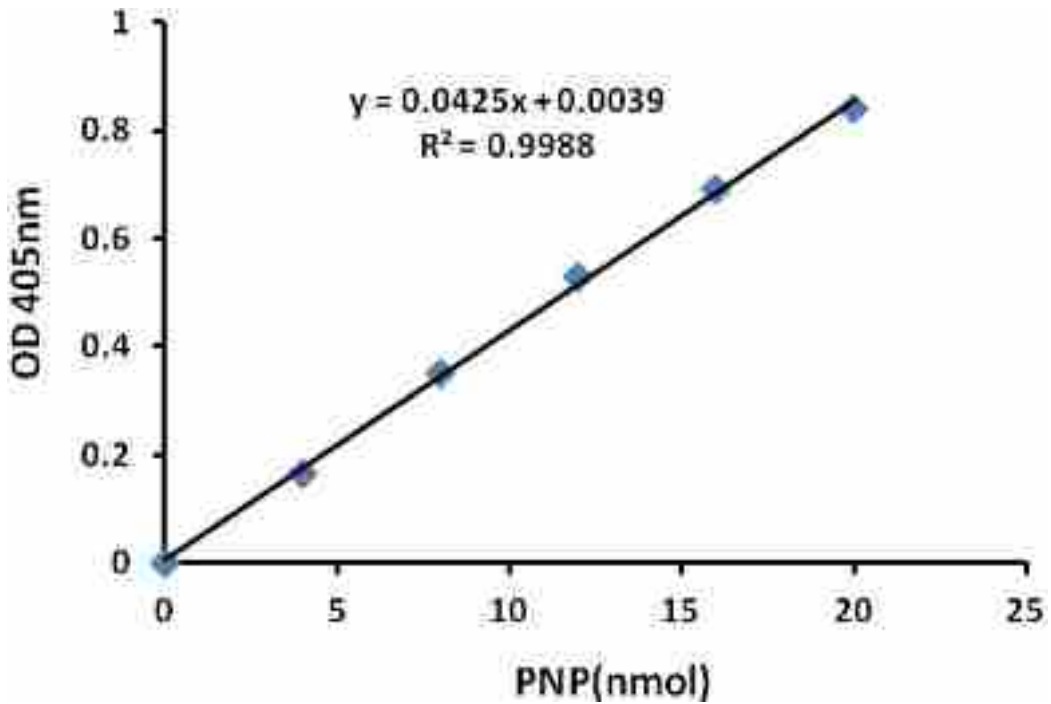
25 EP

	μ L	
样本	10	10
试剂一	20	
试剂二	70	90

迅速混匀，37°C保温 20min		
试剂三	100	100
混匀，5min 后立即于 405nm 下读取吸光值 A， $\Delta A=A$ 测定-A 对照（每个测定管需设一个对照管）。		

1. A V1 40 $\mu$ L  
T 30min 60min V1

T  
2. A 1.5 D  
\_\_\_\_\_ :  
1 y = 0.0425x + 0.0039 x nmol y A



2

1 nmol (PNP)

$$\begin{aligned}
 & \text{(nmol/min/mg prot)} = (A - 0.0039) \div 0.0425 \div (V1 \times Cpr) \div T \times D \\
 & = 78.43 \times (A - 0.0039) \div Cpr \times D
 \end{aligned}$$

3

1 nmol (PNP)

$$\begin{aligned}
 & \text{(nmol/min/g)} = (A - 0.0039) \div 0.0425 \div (V1 \div V \times W) \div T \times D \\
 & = 78.43 \times (A - 0.0039) \div W \times D
 \end{aligned}$$

4

$10^4$  1 nmol (PNP)

$$\begin{aligned}
 & \text{(nmol/min}/10^4\text{cell)} = (A - 0.0039) \div 0.0425 \div (V1 \div V \times \quad) \div T \times D \\
 & = 78.43 \times (A - 0.0039) \div \quad \times D
 \end{aligned}$$

5

1 nmol (PNP)

$$\begin{aligned}
 & \text{(nmol/min/mL)} = (A - 0.0039) \div 0.0425 \div V1 \div T \times D \\
 & = 78.43 \times (A - 0.0039) \times D
 \end{aligned}$$

V--- 1mL V1--- 10μL=0.01mL

W--- g 500--- 500

T--- 30min D--- 1

Cpr--- mg/mL BCA

1 10μmol/mL EP 1mL

2 0, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2 $\mu$ mol/mL

3 96 10 $\mu$ L +90 $\mu$ L +100 $\mu$ L 405nm