



## 漆酶酶活的快速测定技术

发布时间：2020-02-12

### 项目概况

酶活是酶和酶制剂的挖掘、创制、研究、生产、分离纯化及应用的一个必不可少的参数。分光光度法是最常用的酶活测定技术，目前利用分光光度法测定酶活只测定反应开始及结束时的底物或产物浓度，无法判断在反应过程中底物浓度是否一直处于使酶保持初始催化反应速率的浓度范围之内，测定的结果实际上是两个测定时间点之间的平均催化速率，影响到酶活检测结果的准确性、重现性和可比性。由于该方法酶的催化反应过程与吸光度的检测在时间和空间上是相互分离的，导致操作复杂，容易出现误差。

酶催化的反应温度和反应时长的计量是酶活检测准确与否的重要影响因素。现有的酶活测定方法，酶催化反应体系在反应起始阶段的试剂混和与温度控制过程，在终止酶催化反应的阶段均存在较大的系统误差和偶然误差。为了减少上述误差，往往通过较高浓度的底物和较长的酶催化反应时长（通常控制在10~60 min），来减少计量误差的影响。而过长的检测时长进一步限制了将其应用于高通量检测和在线检测。

本成果以漆酶为研究对象，设计了自动化恒温反应分光光度系统，建立了基于恒温催化反应过程中实时测定吸光度的酶活快速测定方法。

### 应用前景

本成果简化了操作，提高了计量精度，减少了误差，大幅度缩短了检测时长，测定酶的初始催化反应速率，及时获得更加准确的重现性更好的检测结果。

将本成果扩展到其他酶的酶活分光光度法检测，进一步通过进样、混匀、测定及清洗操作的自动化以及多个样液或参数的同时测定，可以开发研制酶活的自动测定仪、酶活的高通量检测仪及酶活的在线检测仪。

### 技术特点

本成果使酶的恒温催化反应与吸光度的检测在同一时空进行，实现了检测过程中酶催化反应温度的精确控制及催化反应时长的精确计量，大幅度降低了因计量而引起的误差。由于可以在酶恒温催化反应的同时实时监测产物（或底物）浓度及反应速率的变化，一方面，可以避免反应过程中因底物的消耗而引起测定结果的误差，确保通过初始催化反应速率计算酶活，测定结果准确。另一方面，由于初始催化反应速率是酶的重要特征，因而更便于不同酶及其制剂活力的比较。在此基础上，不仅显著缩短了检测所需的时间（本成果对漆酶酶活的检测时长最快只需2秒），可满足高通量检测对检测时长的要求，而且大幅度降低了底物和待测酶液的浓度，节省试剂成本。由于本成果不需要终止催化反应，大幅度简化了操作程序，进一步缩短了检测全过程消耗的总时间。

申请和授权专利：基于恒温催化反应过程中实时测定吸光度的酶活测定方法，CN 2019 1 1189740.3；恒温反应分光光度测定系统及其检测方法，CN 2017 1 1277818.8；恒温反应分光光度测定系统，ZL 2017 2 1688285.8。

### 联系电话

022-84861990

[【打印】](#) [【关闭】](#) [【返回】](#)

