

## 重组羧肽酶 B 最适 PH,最适温度及 PH,温度稳定性

### 1、pH 稳定性

将 rCPB 纯化后的酶液稀释至不同 pH 的 50mM 缓冲液中 pH 分别为 3.0、4.0、5.0、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、8.5、9.0、10.0、11.0、12.0，使酶液的终浓度为 1mg/mL，25℃ 孵育 12h 后测活。

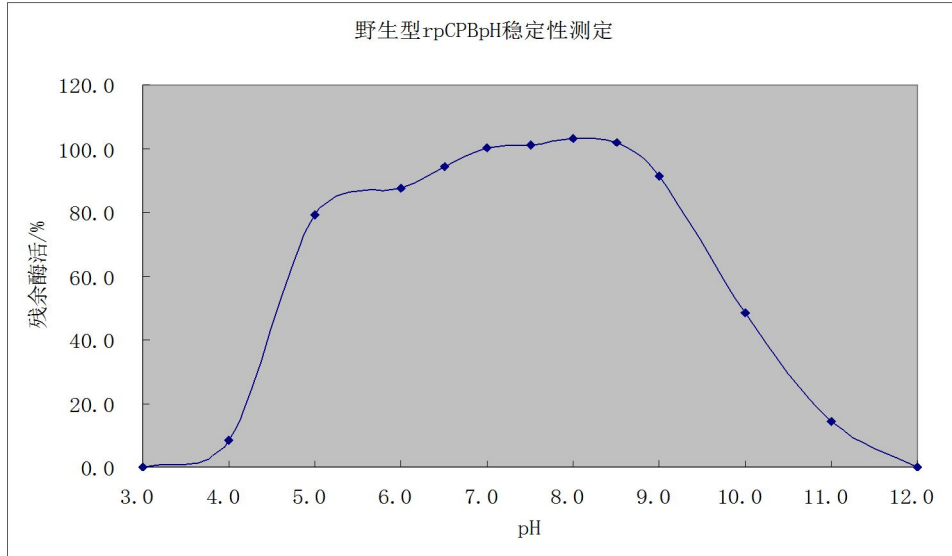


图1 rCPB 酶液的 pH 稳定性

### 2、最适 pH

测定 rCPB 纯酶液浓度为 1mg/mL,在不同 pH 条件下的催化速率，底物浓度为 0.1mM/L，pH 分别为 3.0、4.0、5.0、6.0、6.5、7.0、7.5、7.65、8.0、8.5、9.0、10.0、11.0、12.0，pH3.0-5.0 用 50mMNaAc-HAc 缓冲液配制，pH6.0-7.0 用 50mM KPB 磷酸盐缓冲液配制，pH7.5-8.5 用 50mM Tris-HCl 缓冲液配制，pH9.0-12.0 用 50mM Gly-NaOH 缓冲液配制。

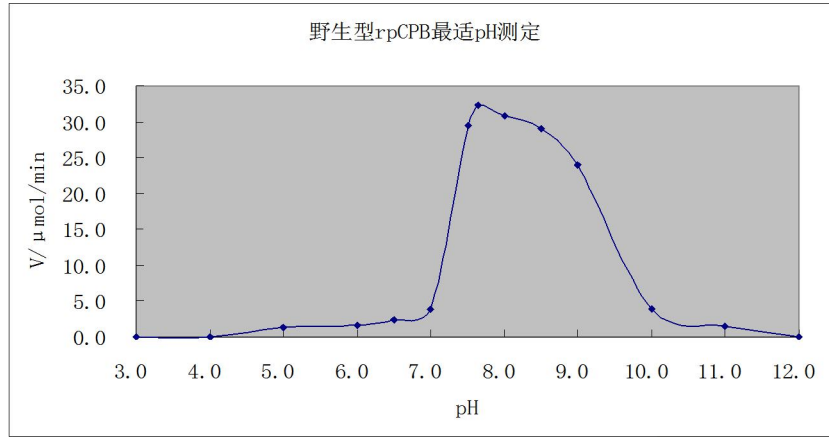


图2 rCPB 酶液的最适反应 pH

### 3、温度稳定性

将 rCPB 酶液配成浓度为 1mg/mL，置于 4℃、25℃、30℃、40℃、50℃、60℃ 条件下，每个温度三个平行，时间定为 15min、30min、1h、2h、4h、8h、20h 分别取样测定其活性，以初始时酶活定为 100%，以残余酶活百分比表示测定结果

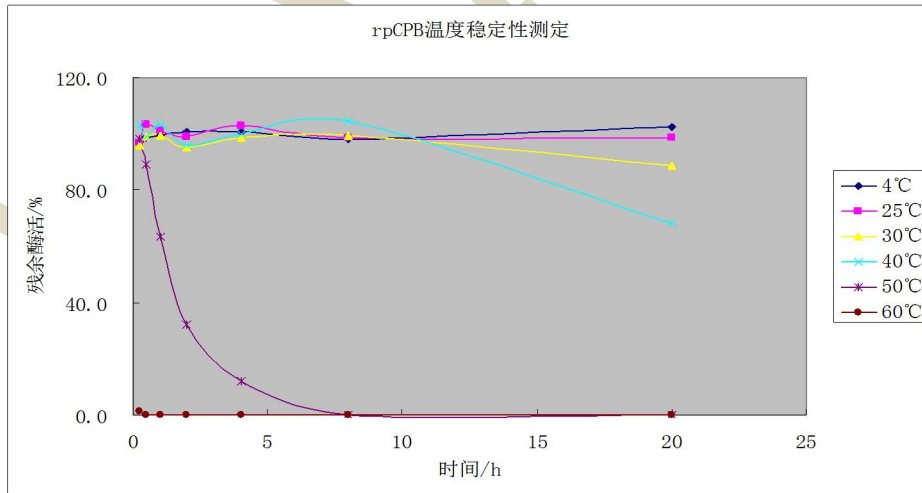


图3 rCPB 酶液的温度稳定性

#### 4、最适催化温度

在不同温度下恒温水浴测活底物，使底物的温度分别为 4℃、25℃、30℃、40℃、50℃、60℃、70℃、80℃，取 rCPB 纯酶液浓度均为 1mg/mL 测定活力。以 254nm 吸光值 OD<sub>254</sub> 为纵坐标，时间为横坐标，结果表示如下图 4。

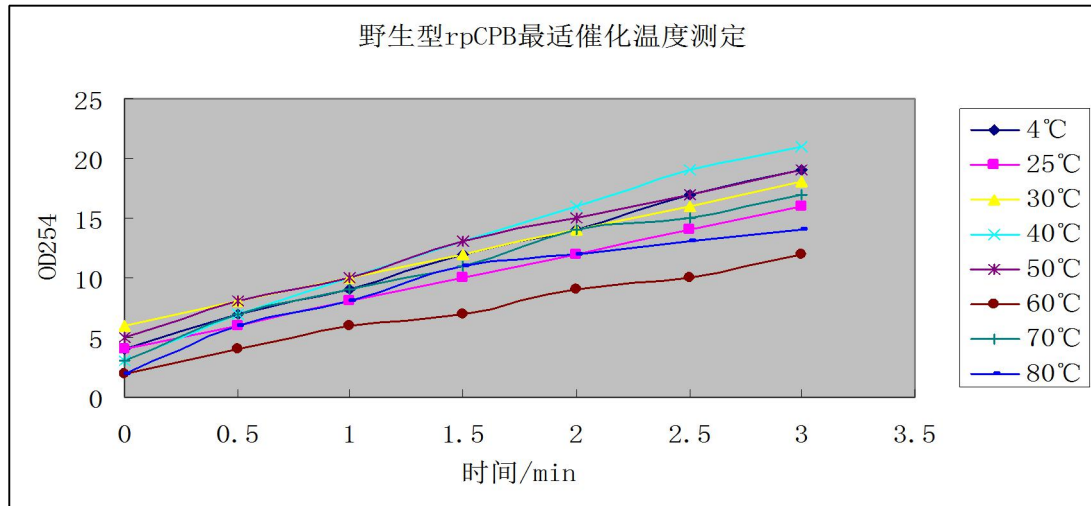


图 4 rCPB 的最适催化温度

#### 5、rCPB 酶液的反复冻融稳定性

将 rCPB 酶液反复冻融，测定每次冻融后的酶活，计算活力保留率，得到同一管 rCPB 反复冻融 10 次后的活力稳定性（如图 5）。

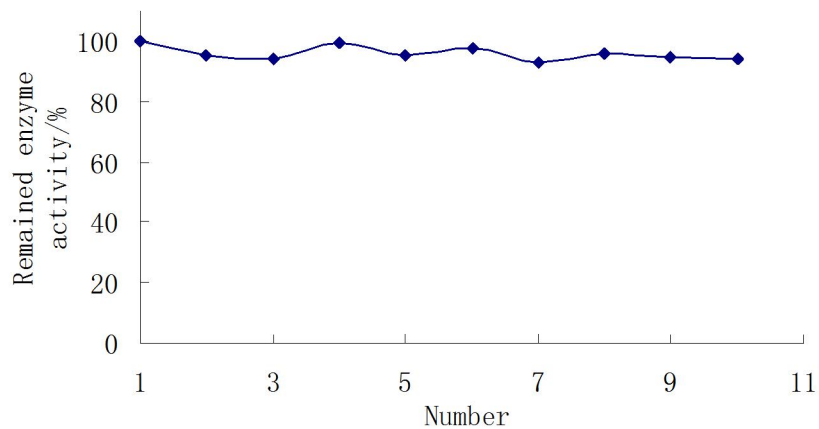


图 5 rCPB 酶液的反复冻融稳定性