

## 滤纸酶检测试剂盒（可见分光光度法）

产品货号：BA1202

产品规格：50管/24样

### 产品说明：

纤维素酶是降解纤维素生成葡萄糖一类酶的总称，它不是单体酶，而是起协同作用的多组分酶系。以不溶性纤维素如滤纸为底物测定的纤维素酶称为滤纸酶，研究滤纸酶活力对纤维素酶总体酶活力的研究有着重要意义。

FPA水解滤纸产生还原糖，还原糖与3,5-二硝基水杨酸反应生成在540nm有特征吸收峰的棕红色物质，通过测定540nm处吸光值变化可计算得FPA活性。

**注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。**

### 产品内容：

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体35mL×1瓶	2-8℃
试剂二	液体60mL×1瓶	2-8℃
滤纸条	50mg×50条	室温
标准品	粉剂×1瓶	2-8℃

溶液的配制：

1. 滤纸条：常温防潮保存。
2. 标准品：临用前加入1mL蒸馏水溶解，配成10mg/mL葡萄糖溶液备用，4℃可保存一周。

### 需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、台式低温离心机、水浴锅、1mL玻璃比色皿、可调式移液枪、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水、EP管（2mL）

### 操作步骤：

#### 一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）：

1. 组织：按照质量（g）：蒸馏水体积（mL）为1：5~10的比例（建议称取约0.1g，加入1mL蒸馏水）加入蒸馏水，冰浴匀浆后于4℃，12000rpm离心10min，取上清置于冰上待测。
2. 细胞或细菌：先收集细胞或细菌到离心管中，离心后弃上清；按照细胞或细菌数量（ $10^4$ 个）：蒸馏水体积（mL）为500~1000：1的比例（建议500万细胞或细菌加入1mL蒸馏水），冰浴超声波破碎细胞或细菌（功率300w，超声3秒，间隔7秒，总时间3min）；然后4℃，12000rpm离心10min，取上清置于冰上待测。
3. 培养液或其它液体：直接检测。

#### 二、测定操作：

1. 分光光度计预热30min以上，调节波长至540nm，蒸馏水调零。
2. 将10mg/mL标准液用蒸馏水稀释为0.8、0.6、0.5、0.4、0.3、0.2mg/mL的标准溶液备用。
3. 取200μL样本沸水浴10min（盖紧，防止水分散失），放置常温后作为对照管。
4. 操作表：（在2mL离心管中操作，其中对照管与测定管用有滤纸的EP管，空白管与标准管无需滤纸）



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

试剂名称 (μL)	对照管	测定管	标准管	空白管
煮沸样本	200	-	-	-
样本	-	200	-	-
每支Ep管中放入一个卷状滤纸条（注意要放入底部），作为底物。				
标准溶液	-	-	200	-
蒸馏水	-	-	-	200
试剂一	500	500	500	500
混匀，50℃水浴锅中准确反应30min				
试剂二	800	800	800	800
混匀，沸水浴5min（盖紧，防止水分散失），取出后立即冷却至室温，测定540nm处吸光值A，分别记为A对照管、A测定管、A标准管、A空白管。计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。 每个测定管需设一个对照管，标准曲线只需检测1-2次。				

### 三、FPA活性计算

1. 标准曲线的绘制：以各个标准溶液的浓度为x轴，其对应的 $\Delta A$  标准为y轴，绘制标准曲线，得到标准方程  $y=kx+b$ ，将 $\Delta A$ 带入方程得到x (mg/mL)。

2. FPA活性的计算：

(1) 按蛋白浓度计算

酶活定义：每mg蛋白每分钟分解滤纸产生1mg葡萄糖为1个酶活力单位。

$$\text{FPA酶活 (U/mg prot)} = x \times V_{\text{提取}} \div (V_{\text{提取}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 0.0333x \div C_{\text{pr}}$$

(2) 按样本质量计算

酶活定义：每g样品每分钟分解滤纸产生1mg葡萄糖为1个酶活力单位。

$$\text{FPA酶活 (U/g质量)} = x \times V_{\text{提取}} \div W \div T = 0.0333x \div W$$

(3) 按照细胞或细菌数量计算

酶活定义：每 $10^4$ 个细胞每分钟分解滤纸产生1mg葡萄糖为1个酶活力单位。

$$\text{FPA酶活 (U/10}^4 \text{ cell)} = x \times V_{\text{提取}} \div \text{细胞数量 (万个)} \div T = 0.0333x \div \text{细胞数量 (万个)}$$

(4) 按液体体积计算

酶活定义：每mL样本每分钟分解滤纸产生1mg葡萄糖为1个酶活力单位。

$$\text{FPA酶活 (U/mL)} = x \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} \div T = 0.0333x$$

V提取：提取液（蒸馏水）体积，1mL；V样：加入的样本体积，0.2mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL，蛋白浓度自行测定；W：样本质量，g；T：反应时间，30min。

### 注意事项：

1. 用干净的镊子取出滤纸条，带手套将滤纸条卷成小卷放入Ep管底部。
2. 当A或 $\Delta A$ 超过1.2时，建议将样本用蒸馏水稀释后再进行测定，计算公式中乘以稀释倍数。
3. 显色结束吸取检测液时注意枪头不要碰到滤纸条，以免带入毛状物，影响测定结果。



扫一扫 加微信

**郑州乐业生物科技有限公司**

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com