

## 纤维素酶（CL）活性检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1428

产品规格：100管/48样

### 产品简介：

CL（EC3.2.1.4）存在于细菌、真菌和动物体内，能够催化纤维素降解，是一类可广泛应用于医药、食品、棉纺、环保及可再生资源利用等领域的酶制剂。

采用3,5-二硝基水杨酸法测定CL催化纤维素降解产生的还原糖的含量。

**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。**

### 产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体100mL×1瓶	4℃
试剂一	液体5mL×1瓶	4℃
试剂二	液体20mL×1瓶	4℃
试剂三	液体5mL×1瓶	4℃
标准品	粉剂×1支	4℃

### 溶液的配制：

标准品：10mg无水葡萄糖（干燥失重<0.2%）。临用前加入1mL蒸馏水溶解，配制成10mg/mL葡萄糖溶液备用，4℃可保存1周，或者用饱和苯甲酸溶液溶解，可保存更长时间。

### 需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

### 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）

- 细菌或细胞：收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照每500万细菌或细胞加入1mL提取液，超声冰浴破碎细菌或细胞（功率20%，超声3秒，间隔10秒，重复30次）；8000g 4℃离心10min，取上清，置冰上待测。
- 组织：称取约0.1g组织加入1mL提取液，冰浴中匀浆。8000g，4℃离心10min，取上清，置冰上待测。

#### 二、测定步骤

- 分光光度计或酶标仪预热30min以上，调节波长至540nm，蒸馏水调零。
- 标准品的准备：将标准品用蒸馏水稀释至1、0.8、0.6、0.4、0.2、0.1、0mg/mL。
- 加样表（在EP管中依次加入下列试剂）：

试剂名称（ $\mu\text{L}$ ）	对照管	测定管	标准管
试剂一	50	50	-
试剂二	200	200	-
双蒸水	50	50	-
样本		50	-
煮沸的样本	50		-
混匀，40℃准确水浴30min，取出后立即放入沸水中煮沸15min，得糖化液			



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

糖化液	15	15	-
标准液	-	-	15
试剂三	35	35	35
混匀，沸水浴显色15min（盖紧，防止水分散失），冷却			
双蒸水	250	250	250
混匀，540nm处蒸馏水调零，测定吸光值A，样本管计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。			

### 三、CL活力计算

#### 1. 标准曲线的建立:

540nm处蒸馏水调零，读标准管吸光值A。以浓度（y）为纵坐标，吸光度A（x，减浓度为0标准管的OD值）为横坐标建立标准曲线。根据标准曲线，将 $\Delta A$ 带入公式中（x）计算浓度y（mg/mL）。

#### 2. 按样本蛋白浓度计算

单位的定义：每mg组织蛋白在反应体系中每分钟催化产生1 $\mu$ g葡萄糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{CL活力 (U/mg prot)} = 1000 \times y \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 233 \times y \div \text{Cpr}$$

#### 3. 按样本质量计算

单位的定义：每g组织在反应体系中每分钟催化产生1 $\mu$ g葡萄糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{CL活力 (U/g质量)} = 1000 \times y \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 233 \times y \div W$$

#### 4. 按细菌或细胞数量计算

单位的定义：每1万个细菌或细胞在反应体系中每分钟催化产生1 $\mu$ g葡萄糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{CL活力 (U/10}^4\text{cell)} = 1000 \times y \times V_{\text{反总}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.467 \times y$$

1000: 单位换算系数, 1mg/mL=1000 $\mu$ g/mL; V反总: 反应体系总体积, 0.35mL; V样: 加入样本体积, 0.05mL; V样总: 加入提取液体积, 1mL; T: 反应时间, 30min; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本样本, g; 500: 细菌或细胞总数, 500万。



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