

土壤外切- β -1,4-葡聚糖酶/纤维二糖水解脱酶(CBH)试剂盒 (微板法)

产品货号: BA2812

产品规格: 48样/96样

产品简介:

土壤外切- β -1,4-葡聚糖酶又称土壤纤维二糖水解脱酶 (CBH, EC3.2.1.91) 是土壤纤维素酶系的组份之一, 该酶作用于 β -1,4-糖苷键, 每次切下一个纤维二糖 (还原糖) 分子, 本试剂盒采用该酶催化对硝基苯基- β -D-纤维二糖苷生成黄色物质对-硝基苯酚 (PNP), 该物质在405nm有特征光吸收, 进而得到土壤外切- β -1,4-葡聚糖酶 (S-CBH) 活性大小。

产品组成:

试剂名称	48样	96样	保存条件	备注
试剂一	液体85mL×1瓶	液体120mL×1瓶 液体60mL×1瓶	2-8°C	
试剂二	粉体mg×2支	粉体mg×4支	2-8°C	临用前甩几下使粉剂落入底部, 每支再加入1.4mL蒸馏水溶解, 4度保存。
试剂三	液体20mL×1瓶	液体40mL×1瓶	2-8°C	
标准品	粉剂mg×1支	粉剂mg×1支	2-8°C	若重新做标曲, 则用到该试剂。

需自备的仪器和用品:

酶标仪、96孔板、水浴锅或恒温振荡培养箱、可调式移液器、蒸馏水。

土壤外切- β -1,4-葡聚糖酶活性测定:

建议正式实验前选取2个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

1. 样本制备:

取新鲜土样或干土 (风干或者37度烘箱风干), 先粗研磨, 过40目筛网备用。

【注】: 土壤风干, 减少土壤中水分对于实验的干扰; 土壤过筛, 保证取样的均匀细腻;

2. 上机检测:

① 酶标仪预热30min以上, 调节波长至405nm。

② 在EP管中依次加入:

试剂名称 (μ L)	测定管	对照管	空白管 (仅做一次)
土样 (g)	0.1	0.1	-
试剂一	750	800	750
试剂二	50	-	50
充分混匀, 37°C培养2小时 (振荡培养或间隔20min手动振荡混匀几下)			
试剂三	200	200	200
混匀, 8000rpm离心5min (若上清液不澄清可加大离心力), 取200 μ L上清液至96孔板中, 405nm下读取吸光值A, $\Delta A = A_{测定} - A_{对照} - A_{空白}$ (每个样本做一个自身对照)			

【注】: 1.若 ΔA 较小, 可延长37°C的孵育时间T (如增至4小时或更长), 或增加土样质量W (如增至0.3g)。则改变后的T和W需代入计算公式重新计算。



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

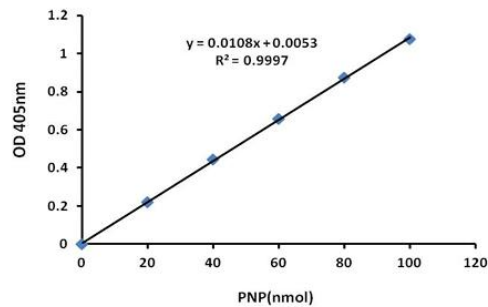
Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

2.若测定管 A 值大于 1.5 或 ΔA 大于 1.5, 可缩短 37°C的孵育时间 T (如减至 0.5 小时或更短), 或减少土样质量 W (如减至 0.05g)。则改变后 T 和 W 需代入计算公式重新计算。或对最后一步的待检测上清液 (包括测定管、对照管和空白管) 同时用蒸馏水进行稀释, 稀释倍数 D 代入计算公式。

结果计算:

1. 标准曲线方程: $y=0.0108x+0.0053$; x 为标准品摩尔质量 (nmol), y 为 ΔA 。



2. 单位定义: 每小时每克土样中产生 1nmol 对-硝基苯酚 (PNP) 定义为一个酶活单位。

$$\begin{aligned} \text{S-CBH 活力}(\text{nmol/h/g 土样}) &= (\Delta A - 0.0053) \div 0.0108 \div W \div T \times D \\ &= 46.3 \times (\Delta A - 0.0053) \div W \times D \end{aligned}$$

T---反应时间, 2h;

W---土壤样本实际取样量, g;

PNP 相对分子质量---139.11; D---稀释倍数, 未稀释即为 1。

附: 标准曲线制作过程:

1. 制备标准品母液 (10 $\mu\text{mol/mL}$): 向标准品 EP 管里面加入 1.4mL 蒸馏水超声溶解。
2. 把母液用蒸馏水稀释成以下浓度: 0,0.4,0.8,1.2,1.6,2 $\mu\text{mol/mL}$ 。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
3. 在 EP 管加入: 50 μL 标准品+750 μL 试剂一+200 μL 试剂三, 混匀, 取 200 μL 至 96 孔板中, 于 405nm 下读取吸光值, 根据结果制作标准曲线。



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