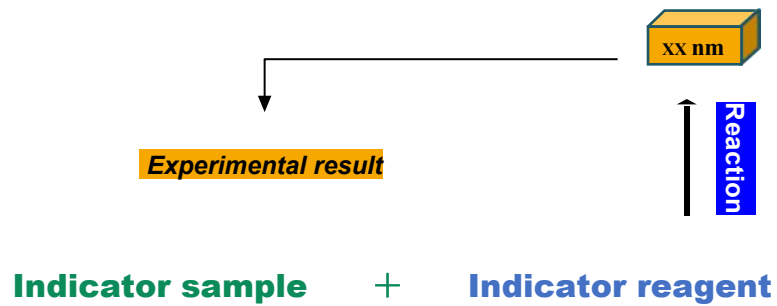


上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co.,Ltd.



生化检测原理示意图

纤维素酶（CL）检测试剂盒说明书

微量法

注意：正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。

产品说明：

CL (EC 3.2.1.4) 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。

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、冰和蒸馏水。

产品内容：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂一	液体 5mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂二	液体 20mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂三	液体 5mL×1 瓶	4℃保存	-
标准品	粉剂×1 支	4℃保存	含 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。
标准品准备：将标准品用蒸馏水稀释至 1、0.8、0.6、0.4、0.2、0.1、0mg/mL。			

操作步骤：

一、样品测定的准备：

1、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 3S 秒，间隔 10S，重复 30 次）；8000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

2、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:

- 1、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。
- 2、加样表 (在 EP 管中依次加入下列试剂):

试剂名称 (μL)	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°C准确水浴 30min, 取出后立即放入沸水中煮沸 15min, 得糖化液			
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, 样品管计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。

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。

CL 活力计算:

根据标准曲线, 将 ΔA 带入公式中 (x) 计算样品浓度 y (mg/mL)。

1、按照蛋白浓度计算

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 μg 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

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

2、按样本鲜重计算

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

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

3、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 μg 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 μg/mL; V 反总: 反应体系总体积, 0.35mL; V 样: 加入样本体积, 0.05 mL; V 样总: 加入提取液体积, 1 mL; T: 反应时间, 30 min; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; 500: 细菌或细胞总数, 500 万。