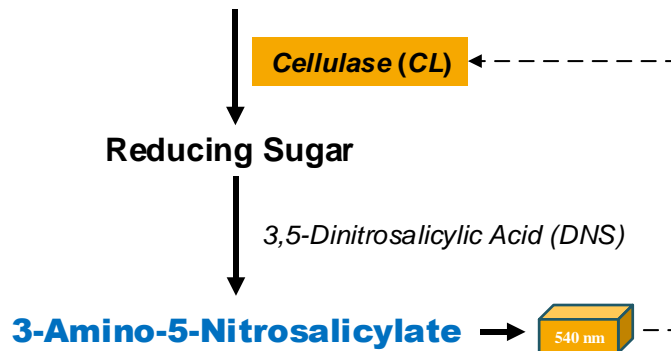




纤维素酶 (CL) 活性检测试剂盒
Cellulase (CL) Activity Assay Kit

Sodium Carboxymethyl Cellulose



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



纤维素酶 (CL) 活性检测试剂盒

Cellulase (CL) Activity Assay Kit

一、产品描述

纤维素酶 (CL) 是一类能够将纤维素降解为葡萄糖的多组分酶系的总称, 通过协同作用分解纤维中 β -1,4-葡萄糖苷键, 使其转变为纤维二糖和寡糖, 最终水解为葡萄糖, 能够为微生物提供可优先利用的碳源营养物质, 在食品、纺织、造纸和医药等领域具有广泛应用。

纤维素酶可催化纤维素降解产生还原糖, 进一步与 3,5-二硝基水杨酸反应, 生成棕红色氨基化合物, 产物在 540 nm 处具有特征吸收峰, 通过吸光值的变化即可表征纤维素酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 60 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 5 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	液体 15 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂三	液体 12 mL×1 瓶	4°C 避光保存	-
标准品	粉剂×1 支 (10 mg 葡萄糖标准品)	4°C 保存	使用前加入 1 mL 蒸馏水充分溶解 (即为 10 mg/mL 葡萄糖标准液)
标准稀释液的制备: 将 10 mg/mL 葡萄糖标准液使用蒸馏水稀释至 2.0、1.5、1.0、0.5、0.25、0.125 mg/mL 即为标准稀释液。			

序号	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度 (mg/mL)	10	10	10	1.0	0.5	0.25
标准液体积 (μ L)	200	150	100	500	500	500
蒸馏水体积 (μ L)	800	850	900	500	500	500
稀释后浓度 (mg/mL)	2.0	1.5	1.0	0.5	0.25	0.125

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴和蒸馏水。

1.粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量(10^4 个)：提取液体积(mL)为(500-1000)：1的比例（建议500万个细菌或细胞加入1 mL提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率20%或200 W，超声3 s，间隔10 s，重复30次），4°C 8000 g离心10 min，取上清置于冰上待测。

②组织：按照组织质量(g)：提取液体积(mL)为1：(5-10)的比例（建议称取0.1 g组织，加入1 mL提取液）处理样品，冰浴匀浆，4°C 8000 g离心10 min，取上清置于冰上待测。

③血清（浆）、培养液等液体样本：直接检测或适当稀释后再进行检测。

2.测定步骤

①分光光度计预热30 min以上，调节波长至540 nm，蒸馏水调零。

②在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μL)	对照管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
试剂一	50	50	-	-
试剂二	200	200	-	-
蒸馏水	50	50	-	-
粗酶液	50	-	-	-
煮沸灭活粗酶液	-	50	-	-
40°C水浴糖化30 min；立即沸水浴处理15 min (密封以防止水分散失)，即为糖化液				
糖化液	50	50	-	-
标准稀释液	-	-	50	-
蒸馏水	-	-	-	50
试剂三	150	150	150	150
沸水浴显色15 min（密封以防止水分散失），冷却至室温				
蒸馏水	1000	1000	1000	1000

吸光值测定：吸取1 mL反应液至1 mL玻璃比色皿中，测定540 nm处吸光值，记为A测定、A对照、A标准和A空白；计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。注：每个测定管均需设一个对照管，空白管只需测定1-2次。

标准曲线的建立：以2.0、1.5、1.0、0.5、0.25、0.125 mg/mL为横坐标(x)，以其对应的 $\Delta A_{\text{标准}}$ 为纵坐标(y)，绘制标准曲线，得到线性回归方程 $y = kx + b$ ，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入公式中得到x (mg/mL)。

3. 纤维素酶 (CL) 活性计算

① 按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟催化产生 1 μg 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

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

② 按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟催化产生 1 μg 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{CL (U/g)} = \frac{1000 \times x \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{233 \times x}{W}$$

③ 按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 1 万个细菌或细胞每分钟催化产生 1 μg 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{CL (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{1000 \times x \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{233 \times x}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④ 按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟催化产生 1 μg 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{CL (U/mL)} = \frac{1000 \times x \times V_{\text{反总}}}{V_{\text{样}} \times T} = 233.33 \times x$$

注释： V 反总：反应体系总体积，0.35 mL；V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.05 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；T：糖化时间，30 min；Cpr：粗酶液蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞总数：以万计；1000：单位换算系数，1 mg/mL=1000 μg/mL。

四、注意事项

① 若测定吸光值超出标准吸光值线性范围，建议适当增加样本量或将粗酶液适当稀释后再进行测定，计算时相应修改；

② 为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

