

内切-β-1,4-葡聚糖酶/纤维素酶试剂盒说明书

(货号：ADS-F-TDX036-24 分光法 24 样)

有效期：3 个月

测定意义：

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。

测定原理：

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。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、水浴锅、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

试剂的组成和配制：

提取液：液体 50mL×1 瓶，4℃ 保存；

试剂一：液体 4mL×1 瓶，4℃ 保存；

试剂二：液体 10mL×1 瓶，4℃ 保存；

试剂三：液体 10mL×1 瓶，4℃ 保存；

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。

3、液体样本：若是澄清液体，直接检测，若液体样本浑浊，需 4℃，8000g，离心 10min，取上清液检测。

加样表和测定步骤：

试剂名称 (μL)	对照管	测定管
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

糖化液	50	50
试剂三	150	150

混匀，沸水浴中煮沸显色 15min，冷却

双蒸水	1050	1050
-----	------	------

混匀，测 550nm 下吸光值 A，计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。

CL 活力计算：

标准条件下测定回归方程为 $y = 0.3356x - 0.012$ ；x 为标准品浓度 (mg/mL)，y 为吸光值。

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。

$$\begin{aligned} \text{CL 活力(U/mg prot)} &= 1000 \times [(A+0.012) \div 0.3356 \times V_{\text{总}}] \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T \\ &= 695 \times (A+0.012) \div C_{\text{pr}} \end{aligned}$$

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。

$$\begin{aligned} \text{CL 活力(U/g 鲜重)} &= 1000 \times [(A+0.012) \div 0.3356 \times V_{\text{总}}] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T \\ &= 695 \times (A+0.012) \div W \end{aligned}$$

3、按细菌或细胞密度计算

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。

$$\text{CL 活力(U/10}^4 \text{ cell)} = 1000 \times [(A+0.012) \div 0.3356 \times V_{\text{总}}] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times 500) \div T = 1.39 \times (A+0.012)$$

4、按液体体积计算

单位的定义：每 ml 液体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。

$$\begin{aligned} \text{CL 活力(U/mg prot)} &= 1000 \times [(A+0.012) \div 0.3356 \times V_{\text{总}}] \div V_{\text{样}} \div T \\ &= 695 \times (A+0.012) \end{aligned}$$

1000: 1mg/mL=1000ug/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: 样品质量, g; 500: 细菌或细胞总数, 500 万。