



外切 β -1,4-葡聚糖酶/纤维二糖苷酶 (C1) 活性检测试剂盒
 β -1,4-Glucanase/Cellobiosidase (C1) Activity Assay Kit



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



外切 β -1,4-葡聚糖酶/纤维二糖苷酶 (C1) 活性检测试剂盒 β -1,4-Glucanase/Cellobiosidase (C1) Activity Assay Kit

一、产品描述

β -1,4-葡聚糖酶/纤维二糖苷酶 (C1) 存在于细菌、真菌和动物体内, 是微生物纤维素降解酶系的主要组分, 也是水解天然纤维素的必需组分, β -1,4-葡聚糖酶/纤维二糖苷酶可作用于纤维素线状分子的末端, 水解 β -葡萄糖苷键释放出纤维二糖分子, 在纤维素代谢过程中起重要作用。

β -1,4-葡聚糖酶/纤维二糖苷酶 (C1) 能够催化对硝基苯纤维二糖苷 (PNPC) 生成对硝基苯酚, 产物在 400 nm 处具有特征吸收峰, 通过吸光值变化即可表征 β -1,4-葡聚糖酶/纤维二糖苷酶的活性。

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 80 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	粉剂×2 瓶	4°C 避光保存	使用前每瓶加入 3 mL 蒸馏水充分溶解 (配制后 4°C 可保存 1 个月)
试剂二	液体 30 mL×1 瓶	4°C 保存	-
标准液	液体 1 mL×1 支	4°C 避光保存	5 μ mol/mL 对硝基苯酚标准液
标准稀释液的制备 (现用现配): 使用前将 5 μ mol/mL 对硝基苯酚标准液使用蒸馏水稀释至 2.0、1.6、0.8、0.4、0.2、0.1 μ mol/mL 即为标准稀释液。			

序号	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度 (μ mol/mL)	5.0	5.0	1.6	0.8	0.4	0.2
标准液体积 (μ L)	200	160	200	200	200	200
蒸馏水体积 (μ L)	300	340	200	200	200	200
稀释后浓度 (μ mol/mL)	2.0	1.6	0.8	0.4	0.2	0.1

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 酶标仪、96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

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℃ 12000 g 离心 10 min，取上清液置于冰上待测。

②细菌：离心收集细菌至离心管内，按照细菌数量（10⁴ 个）：提取液体积（mL）为（500-1000）：1 的比例（建议 500 万细菌加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率 300 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 3 min），4℃ 12000 g 离心 10 min，取上清液置于冰上待测。

③血液（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酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 400 nm。

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)
粗酶液	20	20	-	-
试剂一	80	-	-	-
蒸馏水	-	80	-	-
充分混匀，37℃准确反应 1 h				
标准稀释液	-	-	20	-
蒸馏水	-	-	80	100
试剂二	200	200	200	200
充分混匀，室温静置 2 min				

吸光值测定：吸取 200 μL 反应液至 96 孔板中，测定 400 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：每个样本均需设一个对照管，各浓度标准管和空白管只需测定 1-2 次。

标准曲线的建立：以 2.0、1.6、0.8、0.4、0.2、0.1 μmol/mL 为横坐标（x），以其对应的 ΔA 标准为纵坐标（y），绘制标准曲线，得到标准方程 $y = kx + b$ ，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入公式中得到 x（μmol/mL）。

3.外切 β-1,4-葡聚糖酶/纤维二糖苷酶（C1）活性计算

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每小时催化生成 1 nmol 对硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$C1 \text{ (U/mg prot)} = \frac{x \times 1000}{C_{pr} \times T} = \frac{1000 \times x}{C_{pr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织样本每小时催化生成 1 nmol 对硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$C1 \text{ (U/g)} = \frac{x \times V_{\text{样总}} \times 1000}{W \times T} = \frac{1000 \times x}{W}$$

③按照细菌数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌每小时催化生成 1 nmol 对硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$C1 \text{ (U/}10^4 \text{ cell)} = \frac{x \times V_{\text{样总}} \times 1000}{\text{细菌数量} \times T} = \frac{1000 \times x}{\text{细菌数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每小时催化生成 1 nmol 对硝基苯酚为一个酶活力单位。

$$C1 \text{ (U/mL)} = \frac{x \times V_{\text{样}} \times 1000}{V_{\text{样}} \times T} = 1000 \times x$$

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.02 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；Cpr：粗酶液蛋白浓度，mg/mL；细菌数量：以万计，若 500 万细菌则代入 500 即可；W：样本质量，g；T：酶促反应时间，1 h；1000：换算系数，1 μmol =1000 nmol。

四、注意事项

①若 A 测定超出标准吸光值线性范围：高于最高值建议将粗酶液使用**提取液**适当稀释后再进行测定；低于最低值建议适当延长酶促反应时间（37°C准确反应 1 h，可以延长至 2 h 以上）或制备更高浓度的粗酶液后再进行测定，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.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

