



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 60 mL×1 瓶 | 4°C 保存 | - |
| 试剂一 | 粉剂×2 瓶 | 4°C 保存 | 使用前每瓶加入 3 mL 蒸馏水充分溶解 (现用现配，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 保存 | 5 μ mol/mL 对硝基苯酚标准液 |
| 标准应用液的制备：将 5 μ mol/mL 对硝基苯酚标准液使用蒸馏水稀释至 0.3125 μ mol/mL 即为标准应用液。 | | | |

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/酶标仪、微量玻璃比色皿（光径 10 mm）/96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、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 万细菌或细胞加入 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°C 12000 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 12000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

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分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 400 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 | 80 | - | - | - |
| 蒸馏水 | - | 80 | 80 | 100 |
| 标准应用液 | - | - | 20 | - |
| 粗酶液 | 20 | 20 | - | - |
| 充分混匀，37°C准确反应 1 h | | | | |
| 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 孔板或微量玻璃比色皿中，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 ΔA 测定=A 测定-A 对照， ΔA 标准=A 标准-A 空白。注：每个样品均需设一个对照管，空白管只需测定 1-2 次。

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。

$$C1 \text{ (U/mg prot)} = \frac{C \text{ 标} \times \Delta A \text{ 测定} \times V \text{ 样} \times 1000}{\Delta A \text{ 标准} \times C_{pr} \times V \text{ 样} \times T} = \frac{312.5 \times \Delta A \text{ 测定}}{C_{pr} \times \Delta A \text{ 标准}}$$

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。

$$C1 \text{ (U/g)} = \frac{C \text{ 标} \times \Delta A \text{ 测定} \times V \text{ 样总} \times V \text{ 样} \times 1000}{\Delta A \text{ 标准} \times W \times V \text{ 样} \times T} = \frac{312.5 \times \Delta A \text{ 测定}}{W \times \Delta A \text{ 标准}}$$

③按照细菌或真菌数量计算

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

$$C1 \text{ (U}/10^4 \text{ cell)} = \frac{C \text{ 标} \times \Delta A \text{ 测定} \times V \text{ 样总} \times V \text{ 样} \times 1000}{\Delta A \text{ 标准} \times \text{细菌或细胞数量} \times V \text{ 样} \times T} = \frac{312.5 \times \Delta A \text{ 测定}}{\text{细菌或细胞数量} \times \Delta A \text{ 标准}}$$

④按液体体积计算

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。

$$C1 \text{ (U/mL)} = \frac{C \text{ 标} \times \Delta A \text{ 测定} \times V \text{ 样} \times 1000}{\Delta A \text{ 标准} \times V \text{ 样} \times T} = \frac{312.5 \times \Delta A \text{ 测定}}{\Delta A \text{ 标准}}$$

注释：C 标：标准应用液浓度，0.3125 $\mu\text{mol/mL}$ ；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：样本蛋白浓度，mg/mL；T：反应时间，1 h；细菌或真菌数量：以万计；W：样本质量，g；1000：换算系数，1 μmol =1000 nmol。

四、注意事项

- ①若测定吸光值大于 1.2，建议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.

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.

