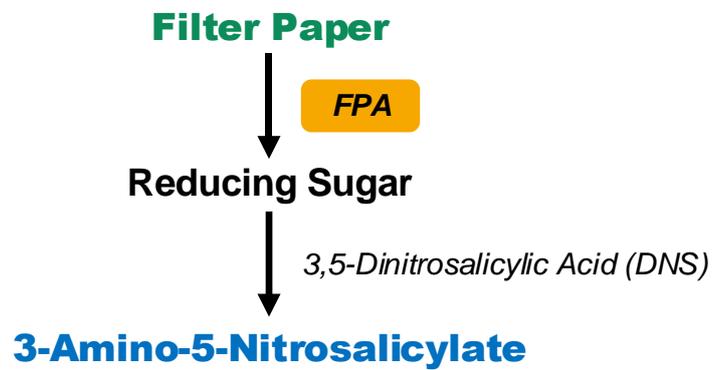




滤纸酶 (FPA) 活性检测试剂盒

Filter Paper Activity (FPA) Activity Assay Kit



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



滤纸酶 (FPA) 活性检测试剂盒

Filter Paper Activity (FPA) 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, 其产物为微生物可优先利用的碳源营养物质, 滤纸酶 (FPA) 活力对纤维素酶的研究具有重要意义。

滤纸酶能够催化滤纸降解生成还原糖, 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, 通过吸光值变化即可表征滤纸酶的活性。

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 35 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	液体 55 mL×1 瓶	4°C 避光保存	-
滤纸条	25 mg×120 条	RT	密封防潮保存
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 1.5、1.2、1.0、0.8、0.4、0.2 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	10	0.8	0.4
标准液体积 (μ L)	150	120	100	80	500	500
蒸馏水体积 (μ L)	850	880	900	920	500	500
稀释后浓度 (mg/mL)	1.5	1.2	1.0	0.8	0.4	0.2

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540 nm，蒸馏水调零。

②灭活酶液的制备：吸取适量粗酶液沸水浴处理10 min（密封以防止水分散失），冷却至室温。

③在2 mL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	100	-	-	-
灭活酶液	-	100	-	-
滤纸条(个)	1	1	-	-
标准稀释液	-	-	100	-
蒸馏水	-	-	-	100
试剂一	250	250	250	250
充分混匀，50°C准确反应30 min				
试剂二	400	400	400	400
沸水浴处理5 min（密封以防止水分散失），冷却至室温				

注：建议使用干净的镊子取出滤纸条，带手套将滤纸条制为卷状后放入离心管底部。

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540 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：空白管只需测定1-2次，每个样品均需设一个对照管。

标准曲线的建立：以1.5、1.2、1.0、0.8、0.4、0.2 mg/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，得到线性回归方程 $y=kx+b$ ，将 ΔA 测定带入公式中得到x(mg/mL)。

3. 滤纸酶 (FPA) 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生成 1 mg 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{FPA (U/mg prot)} = \frac{x \times V_{\text{提}}}{\text{Cpr} \times V_{\text{提}} \times T} = \frac{0.0333 \times x}{\text{Cpr}}$$

② 按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织样本每分钟催化生成 1 mg 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{FPA (U/g)} = \frac{x \times V_{\text{提}}}{W \times T} = \frac{0.0333 \times x}{W}$$

③ 按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每分钟催化生成 1 mg 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{FPA (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{x \times V_{\text{提}}}{\text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{0.0333 \times x}{\text{细菌或细胞数量}}$$

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生成 1 mg 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{FPA (U/mL)} = \frac{x \times V_{\text{样}}}{V_{\text{样}} \times T} = 0.0333 \times x$$

注释： V 提：粗酶液总体积，1 mL；V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.2 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量，以万计；T：反应时间，30 min。

四、注意事项

① 若测定吸光值超出标准吸光值线性范围：高于最高值建议将粗酶液适当稀释后再进行；低于最低值建议适当增加样本量或延长反应时间后再进行测定，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.

