

纤维素酶（CL）活性检测试剂盒说明书

可见分光光度法

货号：BC2540

规格：50T/24S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系本公司工作人员

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 30 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂一	液体 4 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂二	液体 10 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂三	液体 13 mL×1 瓶	2-8°C保存
标准品	粉剂×1 支	2-8°C保存

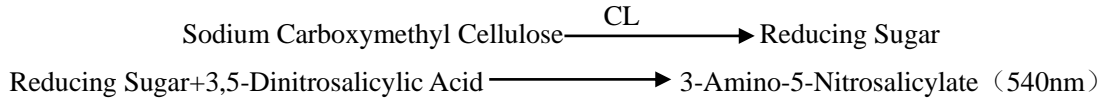
溶液的配制：

标准品：10mg 无水葡萄糖（干燥失重<0.2%）。临用前加入 1mL 蒸馏水溶解，配制成 10mg/mL 葡萄糖溶液备用，2-8°C可保存两周，或者用饱和苯甲酸溶液溶解，可保存更长时间。

产品说明：

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。

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。



注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、水浴锅、低温离心机，可调式移液器、1mL玻璃比色皿、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

- 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 200w，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；8000g 4°C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°C离心 10min，取上清，置冰上待测。

二、测定步骤

- 1、分光光度计预热30min以上，调节波长至540nm，蒸馏水调零。
- 2、标准品稀释表：将标准品用蒸馏水稀释至1、0.8、0.6、0.4、0.2、0.1、0mg/mL。

序号	稀释前浓度 (mg/mL)	标准液体积 (μL)	蒸馏水体积 (μL)	稀释后浓度 (mg/mL)
1	10	100	900	1
2	1	160	40	0.8
3	1	120	80	0.6
4	1	80	120	0.4
5	1	40	160	0.2
6	1	20	180	0.1
7	1	0	200	0

实验中每个标准管需50μL标准溶液。

3、加样表（在EP管中依次加入下列试剂）：

试剂名称 (μL)	对照管	测定管	标准管
试剂一	50	50	-
试剂二	200	200	
蒸馏水	50	50	-
样本		50	-
煮沸的样本	50		-
混匀，40°C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	-
标准液	-	-	50
试剂三	150	150	150
混匀，沸水浴中煮沸显色15min，冷却			
蒸馏水	1050	1050	1050
混匀，取 1mL 至玻璃比色皿测定吸光值 A，计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{标准-A}}(0 \text{ mg/mL})$ 。标准曲线只需做 1-2 次。			

三、CL活力计算

1、标准曲线的建立：

根据标准管的浓度 (y, mg/mL) 和吸光度 $\Delta A_{\text{标准}}$ (x, $\Delta A_{\text{标准}}$)，建立标准曲线。根据标准曲线，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ (x, $\Delta A_{\text{测定}}$) 带入公式计算样本浓度 (y, mg/mL)。

2、按样本蛋白浓度计算

单位的定义：每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟催化产生 1μg 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{CL 活力 (U/mg prot)} = 1000 \times y \times V_{\text{反应}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 233 \times y \div C_{\text{pr}}$$

3、按样本质量计算

单位的定义：每 g 组织在反应体系中每分钟催化产生 1μg 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{CL 活力 (U/g 质量)} = 1000 \times y \times V_{\text{反应}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 233 \times y \div W$$

4、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 1μg 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{CL 活力 (U/10}^4 \text{ cell)} = 1000 \times y \times V_{\text{反应}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.467 \times y$$

1000: 单位换算系数, 1mg/mL=1000 μ g/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: 样本质量, g; 500: 细菌或细胞总数, 500 万。

相关发表文献:

Guo Q, Du G, Qi H, et al. A nematicidal tannin from *Punica granatum* L. rind and its physiological effect on pine wood nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*)[J]. *Pesticide biochemistry and physiology*, 2017, 135: 64-68.

参考文献:

Faria M L, Kolling D, Camassola M, et al. Comparison of *Penicillium echinulatum* and *Trichoderma reesei* cellulases in relation to their activity against various cellulosic substrates[J]. *Biores. Technol*, 2008, 99: 1417-1424.

相关系列产品:

BC0340/BC0345 糖原含量检测试剂盒

BC2450/BC2455 植物组织果糖 (FT) 含量检测试剂盒

BC2510/BC2515 海藻糖酶 (THL) 活性检测试剂盒