上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话：021-61312973　传真：021-55068248
网址：www.shyuanye.com
邮箱：shyysw@sina.com

纤维素酶(CL)活性检测试剂盒(微量法)

货号： R41877

规格： 100T/48S

保质期：6个月

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
提取液ES32	60mL×1瓶	2-8℃保存
试剂-A	5mL×1瓶	2-8℃保存
试剂-B	20mL×1瓶	2-8℃保存
试剂-C	5mL×1瓶	2-8℃保存
标准品	粉剂×1瓶	2-8℃保存

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

简介

意义：纤维素酶 (cellulase, 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。

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。

自备用品：

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

样品测定的前处理：

1. 细菌或培养细胞：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；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 1mL 提取液 ES32），超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 20%或

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

2. 组织：按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL提取液 ES32），进行冰浴匀浆。8000g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

测定步骤：

1. 分光光度计或酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 550nm，蒸馏水调零。

2. 标准品的准备：临用前加入 1mL 蒸馏水溶解，配制成 10mg/mL 标准液备用（4℃可保存 1 周），再将标准品用蒸馏水稀释至 5、4、3、2、1、0.5、0 mg/mL。

3. 在 EP 管中依次加入下列试剂：

试剂名称	对照管(ul)	测定管(ul)	标准管(ul)
试剂-A	50	50	
试剂-B	200	200	
蒸馏水	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，另取EP管			
糖化液	15	15	
标准液			15
试剂-C	35	35	35
混匀，沸水浴中煮沸显色15min,冷却			
蒸馏水	250	250	250
混匀，测550nm处吸光值A,计算△A=A测定管-A对照管			

注意：每个测定管需设一个对照管

CL 活力计算：

标准曲线的建立：以浓度（y）为纵坐标，吸光度 A（x，减去浓度为 0 标准管的 OD 值）为横坐标建立标准曲线。根据标准曲线，将 ΔA 带入公式中（x）计算浓度 y（mg/mL）。

1. 按照蛋白浓度计算

单位的定义：每 mg 组织蛋白每分钟催化产生 1μg 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

CL 活力（U/mg prot）＝1000×y×V 反总÷（V 样×Cpr）÷T=233×y÷Cpr

2. 按样本鲜重计算

单位的定义：每 g 组织每分钟催化产生 1μg 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

CL 活力（U/g 质量）＝1000×y×V 反总÷（W×V 样÷V 样总）÷T =233×y÷W

3. 按细菌或细胞密度计算

单位的定义：每 1 万个细菌或细胞每分钟催化产生 1μg 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

CL 活力（U/10^4 cell）＝1000×y×V 反总÷（500×V 样÷V 样总）÷T =0.467×y

注： 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：样本质量，g；500：细菌或细胞总数，500 万。