



内切- β -1, 4-葡聚糖酶活性检测试剂盒(可见分光光度法)

货号: R42047-50T

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
R42047-A	15mL×1 瓶	4℃ 保存
R42047-B	70mL×1 瓶	4℃ 保存
R42047-C	30mL×1 瓶	4℃ 保存
R42047-标准品	粉剂×1 支	4℃ 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: 内切- β -1, 4-葡聚糖酶 (endo- β -1,4-glycanase; Cx) (EC3.2.1.4) 存在于细菌、真菌和动物体内, 是纤维素酶系的主要成分, 归结在以前的 Cx 分类中, Cx 主要作用于非晶态纤维素和水溶性纤维素衍生物, 随机水解糖苷键, 将其分解成葡萄糖、纤维二糖、纤维三糖和其他寡聚体。

原理: 采用 3,5-二硝基水杨酸法测定 Cx 催化羧甲基纤维素钠降解产生的还原糖的含量。

自备用品:

可见分光光度计、水浴锅、离心机、可调式移液器、1ml 玻璃比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

样品测定的准备:

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 (10⁴ 个): R42047-C 体积 (mL) 为 500~1000 : 1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1mL R42047-C), 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）：R42047-C体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL R42047-C），进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

3. 血清（浆）样品：直接检测。

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. 标准品准备：临用前加入 1 mL 蒸馏水溶解成 10mg/ml 的标准品原液备用（4℃可保存 1 周），再将标准品用蒸馏水稀释至 2.5、2、1.5、1、0.5mg/mL。

3. 加样表（在 EP 管中依次加入下列试剂）：

试剂名称	测定管(μL)	对照管 (μL)	标准管(μL)	空白管 (μL)
样本	50	50		
R42047-A	500			
蒸馏水		500		
混匀，37℃准确水浴 2h，然后吸取 50ul 进行下步反应				
R42047-B	1000	1000	1000	1000
反应后样本	50	50		
标准品			50	
蒸馏水				50
混匀，90℃水浴 10min（盖紧，防止水分散失），冷却后，吸取 1ml 测定 540nm 下吸光值 A，分别记为 A 测定、A 对照、A 标准、A 空白，计算 ΔA 测定=A 测定-A 对照， ΔA 标准=A 标准-A 空白。				
注：每个测定管需设置一个对照管，空白管和标准曲线只需做 1-2 次。				

Cx 活性计算：

1. 绘制标准条件：



根据标准管浓度和吸光度 (A 标准管-A 空白管) 建立标准曲线, x 为标准品浓度 (mg/mL), y 为吸光度。根据标准曲线计算样本中还原糖的含量, 即将 ΔA (A 测定管-A 对照管) 带入 y 计算出 x 值。

2. 血清 (浆) Cx 活力的计算

单位的定义: 每 mL 血清 (浆) 每分钟催化产生 $1\mu\text{g}$ 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{Cx 活力 (U/mL)} = [1000 \times X \times V_{\text{反总}}] \div V_{\text{样}} \div T = 91.67 X$$

3. 细胞、细菌和组织中 Cx 活力的计算

(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 $1\mu\text{g}$ 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{Cx 活力 (U/mg prot)} = [1000 \times X \times V_{\text{反总}}] \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 91.67 X \div \text{Cpr}$$

(2) 按样本鲜重计算

单位的定义: 每 g 组织每分钟催化产生 $1\mu\text{g}$ 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{Cx 活力 (U/g 鲜重)} = [1000 \times X \times V_{\text{反总}}] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 91.67 X \div W$$

(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 $1\mu\text{g}$ 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{Cx 活力 (U/10}^4 \text{ cell)} = [1000 \times X \times V_{\text{反总}}] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.183 X$$

注:

1000 : $1\text{mg/mL} = 1000\mu\text{g/mL}$;

V 反总: 反应体系总体积, 0.55mL;

V 样: 加入样本体积, 0.05 mL;

V 样总: 加入 R42047-C 体积, 1 mL;

T: 反应时间, 120 min ;

Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL;



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 400-666-5481 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: 3008007435@qq.com

W: 样本质量, g ;

500: 细菌或细胞总数, 500 万。

注意事项:

如果测定吸光值超过线性范围吸光值, 可以增加样本量或者稀释样本后再进行测定。



源叶