

使用说明书

Instruction Manual

外切- β -1, 4-葡聚糖酶活性检测试剂盒（微量法）

C1 Assay Kit (Microanalysis)

产品描述

外切- β -1, 4-葡聚糖酶 / 纤维二糖苷酶 (C1) (EC3.2.1.91) 存在于细菌、真菌和动物体内，是纤维素酶系的组份之一，C1 催化多聚糖链的末端非还原端释放出纤维二糖和葡萄糖。

检测原理

采用 3,5-二硝基水杨酸法测定 C1 催化微晶纤维素降解产生的还原糖的含量。

产品组成及储存条件

100T/48S 规格的产品组成如下：

组成	规格	储存条件
CB0038M-ES	100mL×1 瓶	4°C保存。
CB0038M-A	10mL×1 瓶	4°C保存。
CB0038M-B	25mL×1 瓶	4°C保存。
CB0038M-Standard	粉剂×1 支	临用前加入 1mL 蒸馏水溶解，配成 100mg/mL 溶液备用；4°C保存。

注：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

操作说明

一、自备用品：

酶标仪/可见分光光度计、水浴锅、离心机、可调式移液器、96 孔板/微量石英比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

二、样品测定的准备：

- 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)：CB0038M-ES 体积 (mL) 为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1mL CB0038M-ES），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°C离心 10min，取上清，置冰上待测。
- 组织：按照组织质量 (g)：CB0038M-ES 体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL CB0038M-ES），进行冰浴匀浆。8000g 4°C离心 10min，取上清，置冰上待测。
- 血清（浆）样品：直接检测。

三、测定步骤：

- 分光光度计或酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 540nm，蒸馏水调零。
- 将 100 mg/mL 标准液用蒸馏水稀释为 5、4、3、2、1.5、1mg/mL 的标准溶液备用。
- 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	10	10		
CB0038M-A	100			
标准溶液			10	
蒸馏水		100	100	110
混匀, 37°C准确水浴 2h。				
CB0038M-B	200	200	200	200

混匀, 90°C水浴 10min (盖紧, 防止水分散失), 冷却后, 取 200μL 至微量石英比色皿或 96 孔板中, 测 540nm 下吸光值 A, 分别记为 A 对照管、A 测定管、A 标准管、A 空白管。计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定管} - A_{对照管}$, $\Delta A_{标准} = A_{标准管} - A_{空白管}$ 。每个测定管需设一个对照管, 标准曲线和空白管只需检测 1-2 次。

四、c1 活性计算:

1. 标准曲线的绘制:

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

2. Cx 活性的计算

(1) 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 1μg 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

$$Cx \text{ 活力 } (\mu\text{g} / \text{min} / \text{mL}) = x \times V_{反总} \div V_{样} \div T = 0.0917x$$

(2) 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。

$$Cx \text{ 活力 } (\mu\text{g} / \text{min} / \text{mg prot}) = x \times V_{反总} \div (V_{样} \times Cpr) \div T = 0.0917x \div Cpr$$

(3) 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。

$$Cx \text{ 活力 } (\mu\text{g} / \text{min} / \text{g 鲜重}) = x \times V_{反总} \div (W \times V_{样} \div V_{样总}) \div T = 0.0917x \div W$$

(4) 按细菌或细胞密度计算

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

$$Cx \text{ 活力 } (\mu\text{g} / \text{min} / 10^4 \text{ cell}) = x \times V_{反总} \div (500 \times V_{样} \div V_{样总}) \div T = 0.000183x$$

注: 1000: 1mg/mL=1000ug/mL; V 反总: 反应体系总体积, 0.11mL; V 样: 加入样本体积, 0.01 mL; V 样总: 加入 CB0038M-ES 体积, 1 mL; T: 反应时间, 120 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。

注意事项

- 蛋白定量测定, 建议使用 TargetMol 生产的 BCA Protein Quantification Kit (C0050)。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

