

使用说明书

Instruction Manual

外切- β -1, 4-葡聚糖酶活性检测试剂盒（可见分光光度法） C1 Assay Kit (Visible Spectrophotometry)

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

50T/24S 规格的产品组成如下：

组成	规格	储存条件
CB0038V-ES	5mL×1 瓶	4℃保存。
CB0038V-A	25mL×1 瓶	4℃保存。
CB0038V-B	60mL×1 瓶	4℃保存。
CB0038V-Standard	粉剂×1 支	临用前加入 1mL 蒸馏水溶解，配成 100 mg/mL 溶液备用；4℃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：

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。

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）：CB0038V-ES 体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1mL CB0038V-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℃离心 10min，取上清，置冰上待测。
- 组织：按照组织质量（g）：CB0038V-ES 体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL CB0038V-ES），进行冰浴匀浆。8000g 4℃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	50	50		
CB0038V-A	500			
标准溶液			50	
蒸馏水		500	500	550
混匀，37℃准确水浴 2h。				
CB0038V-B	1000	1000	1000	1000

混匀，90℃水浴 10min（盖紧，防止水分散失），冷却后测 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。

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

（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。

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

（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。

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

（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。

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

注：1000：1mg/mL=1000ug/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：加入提取液体积，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

1. 蛋白定量测定，建议使用 TargetMol 生产的 BCA Protein Quantification Kit (C0050)。
2. 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。
3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

