

使用说明书

Instruction Manual

纤维素酶(CL)活性检测试剂盒（可见分光光度法）

Cellulase Assay Kit (Visible Spectrophotometry)

产品描述

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。

检测原理

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。

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
CB0045V-ES	50mL×1 瓶	4℃保存
CB0045V-A	4mL×1 瓶	4℃保存
CB0045V-B	10mL×1 瓶	4℃保存
CB0045V-C	13mL×1 瓶	4℃保存
CB0045V-Standard	粉剂×1 瓶	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、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

二、样品测定的前处理：

- 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)：CB0045V-ES 体积 (mL) 为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1mL CB0045V-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)：CB0045V-ES 体积 (mL) 为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL CB0045V-ES），进行冰浴匀浆。8000g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

三、测定步骤：

- 分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 550nm，蒸馏水调零。
- 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。
- 在 EP 管中依次加入下列试剂：

试剂名称	对照管 (μL)	测定管 (μL)	标准管 (μL)
CB0045V-A	50	50	
CB0045V-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	50	50	
标准液			50
CB0045V-C	150	150	150
混匀, 沸水浴中煮沸显色 15min, 冷却。			
蒸馏水	1050	1050	1050
混匀, 测 550nm 处吸光值 A, 计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。			

注: 每个测定管需设一个对照管。

四、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。

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

2. 按样本鲜重计算

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

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

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 1μg 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

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

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 CB0045V-ES 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。

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。

