

外切 β -1,4-葡聚糖酶/纤维二糖水解脱酶 (C1) 活性检测试剂盒 (微量法)

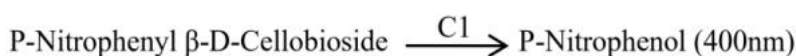
产品货号: BA2221

产品规格: 100T/48S

产品简介:

β -1,4-葡聚糖酶/纤维二糖水解脱酶(C1, EC3.2.1.91)存在于细菌、真菌和动物体内,是微生物纤维素降解酶系的主要组分,也是水解天然纤维素的必需组分,C1酶作用于纤维素线状分子的末端,水解 β -葡萄糖苷键,每次切下1个纤维二糖分子。

C1能够催化对硝基苯纤维二糖苷(PNPC)生成对硝基苯酚,后者在400nm有特征光吸收。



注意: 实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品组成:

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体60mL×1瓶	2-8°C
试剂一	粉剂×2瓶	2-8°C
试剂二	液体30mL×1瓶	-20°C
标准品	液体1mL×1支	2-8°C

溶液的配制:

1. 试剂一: 临用前取1瓶加入3mL蒸馏水溶解备用, 现用现配; 2-8°C保存4周;
2. 试剂二: 试剂二易长菌, 建议分装后再-20°C进行保存;
3. 标准品: 5 μ mol/mL对硝基苯酚溶液。

需自备的仪器和用品:

可见分光光度计/酶标仪、天平、台式低温离心机、水浴锅/恒温培养箱、微量玻璃比色皿/96孔板、可调式移液枪、研钵/匀浆器、EP管。

操作步骤:

一、样本处理 (可适当调整待测样本量, 具体比例可以参考文献)

1. 组织: 按照组织质量(g):提取液体积(m)为 1:5~10 的比例(建议称取 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液)进行冰浴匀浆。10000g, 4°C离心 10min, 取上清置冰上待测。
2. 细菌、真菌: 按照细菌或真菌数量 10⁴ 个:提取液体积(mL)500~1000:1 的比例(建议 500 万细菌或真菌加入 1mL 提取液), 冰浴超声波破碎细胞(功率 200W, 超声 3s, 间隔 7s, 总时间 3min)然后 10000g, 4°C, 离心 10min, 取上清置冰上待测。
3. 血清(浆)等液体: 直接测定。

二、测定步骤

1. 分光光度计/酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 400nm, 分光光度计蒸馏水调零。
2. 标准溶液的稀释: 取 50 μ L 5 μ mol/mL 对硝基苯酚溶液, 加入 750 μ L 蒸馏水, 充分混匀, 配制成 0.3125 μ mol/mL



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

标准液使用，现用现配。(实验中每管需要 20 μL，为减小实验误差，故配制大体积。)

3. 操作表 (在 1.5mL 离心管中依次加入下列试剂)

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	标准管	空白管
样本	80	-	-	-
蒸馏水	-	80	80	100
标准液	-	-	20	-
样本	20	20	-	-
置于 37°C 水浴锅或恒温培养箱准确反应 1h				
试剂二	200	200	200	200

涡旋混匀后室温放置 2min，吸取 200μL 于微量玻璃比色皿或 96 孔板中测定 400nm 下的吸光度，分别记为 A 测定管、A 对照管、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。标准管和空白管只需测 1-2 次。

三、C1 酶活计算

1. 按照样本蛋白浓度计算

酶活定义：每 mg 蛋白在反应体系中每小时生成 1nmol 对硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$C1(U/mg \text{ prot}) = \Delta A_{测定} \div (\Delta A_{标准} \div C_{标}) \times 1000 \times V_{样} \div (C_{pr} \times V_{样}) \div T = 312.5 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div C_{pr}$$

2. 按照样本质量计算

酶活定义：每 g 样本在反应体系中每小时生成 1nmol 对硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$C1(U/g \text{ 质量}) = \Delta A_{测定} \div (\Delta A_{标准} \div C_{标}) \times 1000 \times V_{样} \div (V_{样} \div V_{样总} \times W) \div T = 312.5 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div W$$

3. 按照细菌或真菌数量计算

酶活定义：每 10^4 个细菌或真菌在反应体系中每小时生成 1nmol 对硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$C1(U/10^4 \text{ cell}) = \Delta A_{测定} \div (\Delta A_{标准} \div C_{标}) \times 1000 \times V_{样} \div (\text{细菌或真菌数量} \times V_{样} \div V_{样总}) \div T = 312.5 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div \text{细菌或真菌数量}$$

4. 按液体体积计算

酶活定义：每毫升液体在反应体系中每小时催化生成 1nmol 对硝基苯酚为一个酶活力单位。

$$C1(U/mL) = \Delta A_{测定} \div (\Delta A_{标准} \div C_{标}) \times 1000 \times V_{样} \div V_{样} \div T = 312.5 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准}$$

C 标：标准溶液浓度：0.3125 μmol/mL；V 样：加入的样本体积，0.02m；V 样总：加入的提取液体积，1mL；

Cpr：上清液蛋白浓度，mg/mL；T：反应时间，1h；细菌或真菌数量：以万计；W：样本质量，g；1000：换算系数，1μmol=1000 nmol。

注意事项：

1. 若吸光度大于 1.5 时，建议将样本用提取液稀释后进行测定。计算公式乘以稀释倍数。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com