

土壤外切- β -1,4-葡聚糖酶/纤维二糖水解脱酶(CBH)试剂盒 (可见分光光度法)

产品货号: BA2811

产品规格: 24样/48样

产品简介:

土壤外切- β -1,4-葡聚糖酶又称土壤纤维二糖水解脱酶 (CBH, EC3.2.1.91) 是土壤纤维素酶系的组份之一, 该酶作用于 β -1,4-糖苷键, 每次切下一个纤维二糖 (还原糖) 分子, 本试剂盒采用该酶催化对硝基苯基- β -D-纤维二糖苷生成黄色物质对-硝基苯酚 (PNP), 该物质在405nm有特征光吸收, 进而得到土壤外切- β -1,4-葡聚糖酶 (S-CBH) 活性大小。

产品组成:

试剂名称	24样	48样	保存条件	备注
试剂一	液体45mL×1瓶	液体90mL×1瓶	2-8°C	
试剂二	粉体mg×1支	粉体mg×2支	2-8°C	临用前每支加入1.5mL蒸馏水溶解。
试剂三	液体10mL×1瓶	液体20mL×1瓶	2-8°C	
标准品	粉剂mg×1支	粉剂mg×1支	2-8°C	若重新做标曲, 则用到该试剂。

需自备的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm)、水浴锅或恒温振荡培养箱、可调式移液器、蒸馏水。

土壤外切- β -1,4-葡聚糖酶活性测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

1. 样本制备:

取新鲜土样或干土 (风干或者 37 度烘箱风干), 先粗研磨, 过 40 目筛网备用。

【注】: 土壤风干, 减少土壤中水分对于实验的干扰; 土壤过筛, 保证取样的均匀细腻;

2. 上机检测:

① 可见分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 405nm, 蒸馏水调零。

② 在 EP 管中依次加入:

试剂名称 (μ L)	测定管	对照管	空白管 (仅做一次)
土样 (g)	0.1	0.1	-
试剂一	750	800	750
试剂二	50	-	50
充分混匀, 37°C培养 2 小时 (振荡培养或间隔 20min 手动振荡混匀几下)			
试剂三	200	200	200
混匀, 8000rpm 离心 5min (若上清液不澄清可加大离心力), 取 700 μ L 上清液至 1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm) 中, 405nm 下读取吸光值 A, $\Delta A = A_{测定} - A_{对照} - A_{空白}$ (每个样本做一个自身对照)			

【注】: 1.若 ΔA 较小, 可延长 37°C的孵育时间 T (如增至 4 小时或更长), 或增加土样质量 W (如增至 0.3g)。



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

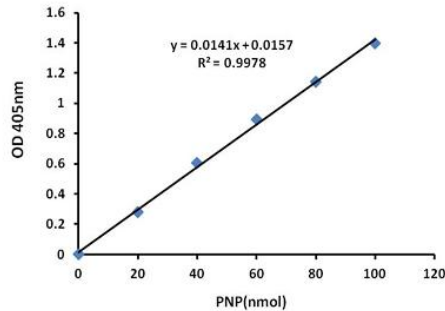
http://www.saint-bio.com

则改变后的 T 和 W 需代入计算公式重新计算。

2.若测定管 A 值大于 1.5 或 ΔA 大于 1.5, 可缩短 37°C 的孵育时间 T (如减至 0.5 小时或更短), 或减少土样质量 W (如减至 0.05g)。则改变后 T 和 W 需代入计算公式重新计算。或对最后一步的待检测上清液 (包括测定管、对照管和空白管) 同时用蒸馏水进行稀释, 稀释倍数 D 代入计算公式。

结果计算:

1. 标准曲线方程: $y=0.0141x+0.0157$; x 为标准品摩尔质量 (nmol), y 为 ΔA 。



2. 单位定义: 每小时每克土样中产生 1nmol 对-硝基苯酚 (PNP) 定义为一个酶活单位。

$$\begin{aligned} \text{S-CBH 活力(nmol/h/g 土样)} &= (\Delta A - 0.0157) \div 0.0141 \div W \div T \times D \\ &= 35.5 \times (\Delta A - 0.0157) \div W \times D \end{aligned}$$

T---反应时间, 2h;

W---土壤样本实际取样量, g;

PNP 相对分子质量---139.11; D---稀释倍数, 未稀释即为 1。

附: 标准曲线制作过程:

1. 制备标准品母液 (10 $\mu\text{mol/mL}$): 向标准品 EP 管里面加入 1.4mL 蒸馏水超声溶解。
2. 把母液用蒸馏水稀释成以下浓度: 0, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2 $\mu\text{mol/mL}$ 。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
3. 在 EP 管加入: 50 μL 标准品+750 μL 试剂一+200 μL 试剂三, 混匀, 取 200 μL 至 96 孔板中, 于 405nm 下读取吸光值, 根据结果制作标准曲线。



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>