



内切-β-1, 4-葡聚糖酶活性检测试剂盒

Cx Assay Kit

微量法

产品编号: AK398M

产品规格: 100T/48S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
ES398	100mL×1 瓶	4℃保存;
AK398-A	12mL×1 瓶	4℃保存;
AK398-B	25mL×1 瓶	4℃保存;
AK400-标准品	粉剂×1 支	临用前加入 1 mL 蒸馏水溶解, 配成 100 mg/mL 溶液备用; 4℃保存

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

意义: 内切-β-1, 4-葡聚糖酶 (endo-β-1,4-glycanase; Cx) (EC3.2.1.4) 存在于细菌、真菌和动物体内, 是纤维素酶系的主要成分, 归结在以前的 Cx 分类中, Cx 主要作用于非晶态纤维素和水溶性纤维素衍生物, 随机水解糖苷键, 将其分解成葡萄糖、纤维二糖、纤维三糖和其他寡聚体。

原理: 采用 3,5-二硝基水杨酸法测定 Cx 催化羧甲基纤维素钠降解产生的还原糖的含量。

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。

样品测定的准备:

1. 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): ES398 体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1mL ES398), 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。
2. 组织: 按照组织质量 (g): ES398 体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL ES398), 进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
3. 血清 (浆) 样品: 直接检测。

测定步骤:

1. 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。
2. 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。
3. 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		
AK398-A	100		100	100
标准溶液			10	
蒸馏水		100		10
混匀, 37℃准确水浴 2h				
AK398-B	200	200	200	200

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。

Cx 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 1 μ g 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 1 μ g 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

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

（3）按样本鲜重计算

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

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

（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 1 μ g 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=1000 μ g/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 ES398 体积，1 mL；T：反应时间，120 min；C_{pr}：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。

※ 蛋白定量检测建议使用本公司：BCA Protein Assay Kit ([C05-02001](#))