



外切-β-1, 4-葡聚糖酶活性检测试剂盒

C1 Assay Kit

微量法

产品编号: AK399M

产品规格: 100T/48S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
ES399	100mL×1 瓶	4℃保存;
AK399-A	10mL×1 瓶	4℃保存;
AK399-B	25mL×1 瓶	4℃保存;
AK399-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: 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, 是纤维素酶系的组分之一, 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。

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。

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): ES399 体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1mL ES399), 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): ES399 体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL ES399), 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		
AK399-A	100			
标准溶液			10	
蒸馏水		100	100	110
混匀, 37℃准确水浴 2h				
AK399-B	200	200	200	200
混匀, 90℃水浴 10min (盖紧, 防止水分散失), 冷却后, 取 200μL 至微量石英比色皿或 96 孔板中, 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 ΔA 测定=A 测定管-A 对照管, ΔA 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。				

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 ΔA 标准 (y, ΔA 标准), 建立标准曲线。根据标准曲线, 将 ΔA 测定 (y, ΔA 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。

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

(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。

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

(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。

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

(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 1 μ g 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

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

注: 1000: 1mg/mL=1000 μ g/mL; $V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, 0.11mL; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.01 mL; $V_{\text{样总}}$:

加入 ES399 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。

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