



土壤外切-β-1, 4-葡聚糖酶活性检测试剂盒

S-C1 Assay Kit

分光光度法

产品编号: AK441V

产品规格: 50T/24S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
ES441	50mL×1 瓶	4℃保存;
AK441-A	15 mL×1 瓶	4℃保存;
AK441-B	60mL×1 瓶	4℃保存;
AK441-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 (Circumcision- β- 1,4-glucanase, C1) (EC3.2.1.91) 存在于细菌、真菌和动物体内, 是纤维素酶系的组份之一, 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:

可见分光光度计、水浴锅、离心机、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

粗酶液提取:

称取约 0.1g 新鲜土样或风干土样, 加入 1mL ES441, 进行冰浴匀浆, 室温振荡提取 30min, 然后 10000g 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

测定步骤:

1. 分光光度计预热 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. 样本测定, (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	50	50		
AK441-A	500			
蒸馏水		500	500	550
标准溶液			50	
混匀, 37℃准确水浴 2h				
AK441-B	1000	1000	1000	1000
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 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。				

S-C1 活力计算:

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. S-C1 活性的计算

单位定义：每 g 土样每分钟催化产生 1 μ g 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{S-C1 活力 } (\mu\text{g}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = [1000 \times x \times V_{\text{反总}}] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \\ = 91.67x \div W$$

注：1000：1mg/mL=1000 μ g/mL；V反总：反应体系总体积，0.55mL；V样：加入样本体积，0.05 mL；V样总：加入提取液体积，1 mL；T：反应时间，120 min；W：样本质量，g。