

Endo- β -1,4-glycanase Activity Assay Kit

内切- β -1,4-葡聚糖酶/纤维素酶活性检测试剂盒 分光法

产品编号	产品名称	规格
BL1805A	内切- β -1,4-葡聚糖酶/纤维素酶活性检测试剂盒 分光法	24T

产品简介:

内切- β -1,4-葡聚糖酶 (EC3.2.1.4) 存在于细菌、真菌和动物体内, 是纤维素酶系的组份之一, 这类酶随机水解 β -1,4-糖苷键, 将无定形长链纤维素分子截短, 将其分解成葡萄糖、纤维二糖、纤维三糖等各种类型的还原糖, 在碱性条件下, 产生的还原糖能与 3,5-二硝基水杨酸反应生成棕红色物质, 该物质在 540nm 下有最大吸收峰, 即可得出内切- β -1,4-葡聚糖酶的酶活性大小。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	60mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	33mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	粉末×1 瓶	4°C保存	临用前加 16.5mL 试剂一, 80°C水浴, 搅拌至溶解, 仍 4°C保存。
试剂三	33mL×1 瓶	4°C保存	
标准品	粉末×1 支	4°C保存	若重新做标曲, 则用到该试剂。

使用方法:

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!

一、样本准备

1. 组织样本:

- 称取约 0.2g 组织 (水分充足的样本可取 1g), 加入 1mL 经预冷的 95%乙醇冰浴匀浆, 4°C 放置 10min;
- 12000rpm, 4°C离心 5min; 弃上清, 留沉淀, 向沉淀中加入经预冷的 80%乙醇混匀, 4°C 放置 10min;
- 12000rpm, 4°C离心 5min; 弃上清, 留沉淀;
- 再向沉淀中加入 1mL 经预冷提取液, 涡旋混匀, 4°C放置 10min;
- 12000rpm, 4°C离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

2. 细胞/细菌样本:

- 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清;
- 取 5×10^6 个细菌或细胞加入 1mL 提取液, 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次);
- 12000rpm 4°C离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 按照每 $0.5 \sim 1 \times 10^7$ 个细菌/细胞加入 1mL 提取液进行提取。

3. 液体样品:

若是澄清液体, 直接检测, 若液体样本浑浊, 需 4°C×12000rpm, 离心 10min, 取上清液检测。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



二、样品测定

1. 可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 540nm，蒸馏水调零。
2. 所有试剂解冻至室温（25℃）。
3. 在离心管中依次加入：

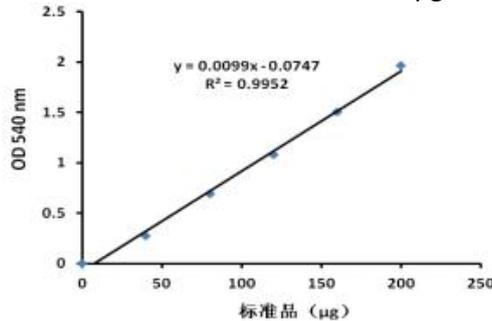
试剂名称 (μL)	测定管	对照管
样本	100	100
试剂一	-	300
试剂二	300	-
37℃ 孵育 60min		
试剂三	300	300

混匀，95℃水浴 5min，取出后用自来水或冰水冷却至室温，取全部澄清液体于 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中，在 540nm 处读取吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ （每个样本做一个对照管）。

【注】：若 ΔA 在零附近，可增加样本取样质量 W 或增加样本加样体积 V1（如增至 150μL（最多增至 250μL），则试剂一和二相应减少），则改变后的 W 和 V1 需代入计算公式重新计算。

三、结果计算

1. 标准曲线方程为 $y = 0.0099x - 0.0747$ ；x 为标准品质量（μg），y 为 ΔA 。



2. 按照蛋白浓度计算

单位定义：每毫克组织蛋白每小时催化产生 1μg 还原糖定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{内切-}\beta\text{-1,4-葡聚糖酶/纤维素酶活力}(\mu\text{g/h/mg prot}) &= [(\Delta A + 0.0747) \div 0.0099] \div (C_{\text{pr}} \times V_1) \div T \\ &= 1010.1 \times (\Delta A + 0.0747) \div C_{\text{pr}} \end{aligned}$$

3. 按样本鲜重计算

单位定义：每克组织每小时催化产生 1μg 还原糖定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{内切-}\beta\text{-1,4-葡聚糖酶/纤维素酶活力}(\mu\text{g/h/g 鲜重}) &= [(\Delta A + 0.0747) \div 0.0099] \div (W \times V_1 \div V) \div T \\ &= 1010.1 \times (\Delta A + 0.0747) \div W \end{aligned}$$

4. 按细菌/细胞密度计算

单位定义：每 1 万个细菌或细胞每小时催化产生 1μg 还原糖定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{内切-}\beta\text{-1,4-葡聚糖酶/纤维素酶活力}(\mu\text{g/h}/10^4 \text{ cell}) &= [(\Delta A + 0.0747) \div 0.0099] \div (500 \times V_1 \div V) \\ &\div T = 2 \times (\Delta A + 0.0747) \end{aligned}$$

5. 按液体体积计算

单位定义：每毫升液体每小时催化产生 1μg 还原糖定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{内切-}\beta\text{-1,4-葡聚糖酶/纤维素酶活力}(\mu\text{g/h/mL}) &= [(\Delta A + 0.0747) \div 0.0099] \div V_1 \div T \\ &= 1010.1 \times (\Delta A + 0.0747) \end{aligned}$$

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。



V---加入提取液体积, 1 mL
T---反应时间, 60min=1 小时
500---细菌或细胞总数, 500 万

V1---加入样本体积, 0.1mL
W---样本质量, g
Cpr---样本蛋白质浓度, mg/mL

附：标准曲线制作过程：

1. 制备标准品母液（2mg/mL）：从标准品管中称量取出 4mg 至一新离心管中，再加 2mL 蒸馏水混匀溶解即 2mg/mL 的葡萄糖（母液需在两天内用且-20℃保存）。
2. 把母液用蒸馏水稀释成六个浓度梯度的标准品：0, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2. mg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
3. 依据对照管的加样表操作，根据结果即可制作标准曲线。

注意事项：

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：

4℃保存六个月。

