



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	60mL×1 瓶	4°C保存；
AK399-A	10mL×1 瓶	4°C保存；
AK399-B	25mL×1 瓶	4°C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°C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:

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:

- 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°C 离心 10min，取上清，置冰上待测。
- 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°C 离心 10min，取上清，置冰上待测。
- 血清（浆）样品：直接检测。

测定步骤:

- 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。
- 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。
- 加样表（在 EP 管中依次加入下列试剂）：

试剂名称	测定管 (μ L)	对照管 (μ L)	标准管 (μ L)	空白管 (μ L)
样本	10	10		
AK399-A	100			
标准溶液			10	
蒸馏水		100	100	110
混匀，37°C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1μg葡萄糖定义为一个酶活力单位。

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

(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1μg葡萄糖定义为一个酶活力单位。

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

(3) 按样本鲜重计算

单位的定义：每g组织每分钟催化产生1μg葡萄糖定义为一个酶活力单位。

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

(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1μg葡萄糖定义为一个酶活力单位。

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

注：1000: 1mg/mL=1000ug/mL; V反总：反应体系总体积，0.11mL; V样：加入样本体积，0.01mL; V样总：加入ES399体积，1mL; 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](#))