外切-β-1,4-葡聚糖酶/纤维二糖水解酶（CBH）活性检测试剂盒说明书

规格：96 样　　方法：酶标仪法

一、注意事项

1. 使用前请通读一遍说明书再开始实验。

2. 正式检测前选取 2~3 个样本进行预检测。

3. 本试剂盒仅用于科研。

二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
提取液	105 mL×1	4℃	
试剂一	11 mL×1	4℃	
试剂二	21 mL×1	4℃	

三、仪器和用品

酶标仪、96 孔板、移液器、天平、可降温离心机、超纯水/蒸馏水、研磨仪/研钵、冰、水浴锅。

四、样品制备

1. 组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1.：5~10 的比例（建议称取约 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液），进行冰浴匀浆。8000 g，4℃离心 10 min，置于冰上，上清为待测液。

2. 细菌/细胞：提取液体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细菌/细胞加入 1 mL 提取液），冰浴超声波破碎细菌/细胞（功率 200W，超声 3 秒，间隔 10s，重复 30 次）；然后 8000 g，4℃，离心 10 min，置于冰上，上清为待测液。

3. 液体样本：澄清的液体的样本直接测定，若浑浊则离心后取上清液检测。

五、测定步骤

1. 酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 540 nm 处。

2. 在 1.5 mL 离心管中依次加入

	测定管	对照管

样本（μL）	10	10
试剂一（μL）	100	-
超纯水/蒸馏水（μL）	-	100
充分混匀，37℃准确水浴 2 h。		
试剂二（μL）	200	200
充分混匀，90℃水浴 10 min（盖紧，防止水分散失），冷却后，取 200 μL 至 96 孔板中，测 540 nm 下吸光值 A，计算ΔA=A 测定管-A 对照管。每个测定管需设一个对照管。		

六、计算

标准方程

标准条件下测得回归方程为：y=3.2039x-0.0673；x 为标准品浓度（mg/mL），y 为吸光值ΔA。

1. 按样本重量计算

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

外切-β-1,4-葡聚糖酶/纤维二糖水解酶活性（μg/min/g 鲜重）=[1000×（ΔA+0.0673） ÷3.2039×V 反总]÷（W× V 样÷V 样总） ÷T =28.61×（ΔA+0.0673） ÷W

2. 按样本蛋白浓度计算

单位定义：每mg组织蛋白每分钟催化产生1 μg葡萄糖定义为一个酶活力单位。

外切-β-1,4-葡聚糖酶/纤维二糖水解酶活性（μg/min/mg prot）=[[1000×（ΔA+0.0673） ÷3.2039×V 反总]÷（V 样×Cpr） ÷T =28.61×（ΔA+0.0673） ÷Cpr

3. 按细菌/细胞数量计算

单位定义：每1万个细菌或细胞每分钟催化产生1 μg葡萄糖定义为一个酶活力单位。

外切-β-1,4-葡聚糖酶/纤维二糖水解酶活性（μg/min 10^4 cell）=[1000×（ΔA+0.0673） ÷3.2039×V 反总]÷（N×V 样÷V 样总） ÷T =28.61×（ΔA+0.0673）

4. 按样本体积计算

单位定义：每mL液体每分钟催化产生1 μg葡萄糖定义为一个酶活力单位。

外切-β-1,4-葡聚糖酶/纤维二糖水解酶活性（μg/min/mL）= [1000×（ΔA+0.0673

） ÷3.2039×V 反总]÷V 样÷T =28.61×（ΔA+0.0673）

1000：1 mg/mL=1000 μg/mL；V 反总：反应体系总体积，0.11 mL； V 样：加入样本体积，0.01 mL；V 样总：加入提取液体积，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；N：细菌或细胞数量，万个。

七、产品简介

外切-β-1,4-葡聚糖酶/纤维二糖水解酶是微生物（如木霉、曲霉）分泌及部分植物体内存在的纤维素酶系核心组分。主要功能是催化结晶纤维素链非还原末端或还原末端的β-1,4-糖苷键逐步水解，释放纤维二糖或葡萄糖，是纤维素彻底降解为可发酵糖的关键限速步骤之一，与内切葡聚糖酶和β-葡萄糖苷酶协同作用完成纤维素的完全糖化，在工业生物质转化（如秸秆生物乙醇）、饲料消化率提升、纺织生物抛光及植物细胞壁代谢调控中发挥重要作用。