纤维素酶（CL）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.实验开始前请先通读一遍说明书。

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	100 mL×1	4℃	
试剂一	5.5 mL×1	4℃	
试剂二	42 mL×1	4℃避光	
试剂三	14 mL×1	4℃避光	

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/恒温培养箱。

四、样品制备

1. 植物、动物组织：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，然后，8000 g，4℃，离心 10 min，置于冰上，上清为待测样本。

2. 细菌、真菌：按照细胞数量（10^4个）：提取液体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细胞加入 1 mL 提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率 200 W，超声 3 秒，间隔 7 秒，重复 30 次）；然后 8000 g，4℃，离心 10 min，置于冰上，上清为待测样本。

3. 液体样本：直接测定。

五、测定步骤：

1.酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 508 nm 处。

2.在 1.5 mL 离心管中加入下列样本及试剂：

	测定管	空白管
样本（μL）	50	50
试剂一（μL）	50	-
试剂二（μL）	200	200
蒸馏水（μL）	50	100

充分混匀后，37℃震荡培养 1 h，90℃水浴 15 min（盖紧，防止水分散失），冷却后，8000g 常温离心 10 min，取上清，得糖化液，用蒸馏水将糖化液稀释 4 倍。

稀释后糖化液（μL）	200	200
试剂三（μL）	60	60

混匀后，沸水浴 5 min（盖紧，防止水分散失），冷却后取 200 μL 于 96 孔板中，测定 A508。ΔA=A 测定-A 空白，每个测定管需对应一个空白管。

六、计算：

标准方程

标准条件下测得回归方程为 y=2.7572x-0.163，R^2=0.9996，x 为标准品浓度（mg/mL），y 为吸光值ΔA。

1. 按照样本质量计算

单位的定义：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。

纤维素酶活性（**μg/min/g** 鲜重）=[1000×（ΔA+0.163）÷2.7572×V 反总]÷（V 样÷V 样总×W）÷T=42.3×（ΔA+0.163）÷W

2. 按照蛋白质浓度计算（需另测蛋白浓度）

单位的定义：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。

纤维素酶活性（**μg/min/mg prot**）=[1000×（ΔA+0.163）÷2.7572×V 反总]÷（V 样×Cpr）÷T=42.3×（ΔA+0.163）÷Cpr

3. 细菌，真菌：

纤维素酶活性（μg/min/10^4 cell）=[1000×（ΔA+0.163）÷2.7572×V 反总]÷（500×V 样÷V 样总）÷T=0.0846×（ΔA+0.163）

1000：1 mg/mL=1000 μg/mL；V 样总：加入提取液体积，1 mL； V 反总：反应总体积，0.35 mL；V 样：反应中样品体积，0.05 mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样品质量，g；T：反应时间，60 min；500：细菌或细胞总数，500

万

七、产品简介

纤维素酶（EC 3.2.1.4）存在于细菌、真菌和动物体内，能够催化纤维素降解，是一类可广泛应用于医药、食品、棉纺、环保及可再生资源利用等领域的酶。