

## 内切-β-1, 4-葡聚糖酶 (Cx) 检测试剂盒 (微量法)

货号：PMK1203

保存：4℃避光保存 12 个月

规格：48T/96T

适用样本：动物组织、细胞、细菌、真菌、血清（浆）或其他液体

### 产品简介

C<sub>x</sub> (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，C<sub>x</sub> 主要作用于非晶态纤维素和水溶性纤维素衍生物，随机水解糖苷键，将其分解成葡萄糖、纤维二糖、纤维三糖和其他寡聚体。本试剂盒提供了一种简单易用的比色法，用于分析生物样品中 C<sub>x</sub> 的活性。其原理是 C<sub>x</sub> 可催化羧甲基纤维素钠降解产生还原糖，通过 3,5-二硝基水杨酸法测定还原糖生成速率来计算其酶活性。

### 产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃保存
试剂一	3mL	6mL	4℃保存
试剂二	12.5mL	25mL	室温避光保存
标准品	粉剂×1支	粉剂×1支	4℃保存

### 自备耗材

酶标仪或可见光分光光度计（能测 540nm 处的吸光度）及水浴锅

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

离心机、制冰机

去离子水

匀浆器（如果是组织样本）

### 试剂准备

提取液：即用型；4℃保存。

试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂二：即用型；常温避光保存，若有黄色晶体析出，需 90℃加热溶解后再用。

标准品：含 10mg 无水葡萄糖，临用前加入 1mL 去离子水溶解得 10mg/mL 标准品储液。10mg/mL 标准品储液可 4℃保存 1 个月或 -20℃长期保存。取 100μL 10mg/mL 标准品储液，加入 100μL 去离子水得 5mg/mL 的标准溶液。

**注意：每次实验，请使用新配制的标准溶液。**

### 样本制备

组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液冰浴匀浆，8,000g，4℃离心 10min，取上清液置冰上待测。

细胞或细菌：收集 500 万细胞或细菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞，离心后弃上清，加入 1mL 提取液，超声波破碎细胞或细菌 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），8,000g，4℃离心 10min，取上清液置冰上待测。

血清（浆）等液体样本：直接测定，根据预实验确定稀释倍数。

**注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在 -80℃保存 1 个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用 BCA 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。**

### 实验步骤

## 产品说明书

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 540nm，可见分光光度计去离子水调零。
2. 样本测定（在 1.5mLEP 管中依次加入下列试剂）：

	标准 (μL)	空白 (μL)	测定 (μL)	对照 (μL)
样本	0	0	10	10
标准溶液	10	0	0	0
试剂一	0	0	100	0
去离子水	100	110	0	100
充分混匀，放入 37°C 水浴 2h				
试剂二	200	200	200	200

充分混匀，95°C 水浴 10min（盖紧，防止水分散失），流水冷却，取 200 μL 至微量石英比色皿或 96 孔板中，540nm 处测定吸光值 A，计算  $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。每个测定管需设一个对照，标准和空白只需要测一次。

**注意：1. 实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果  $\Delta A_{\text{测}}$  小于 0.005 可适当加大样本量。如果  $A_{\text{测}}$  大于 2.0，样本可用去离子水进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数。**

### 结果计算

#### 1. 按样本质量计算

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 U。

$$Cx \text{ 活性 (U/g 质量)} = C_{\text{标}} \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \times V_{\text{反应}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 458.33 \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \div W$$

#### 2. 按液体样本体积计算

单位的定义：每 mL 液体样本在反应体系中每小时产生 1mg 还原糖定义为一个酶活性单位 U。

$$Cx \text{ 活性 (U/mL)} = C_{\text{标}} \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \times V_{\text{反应}} \div V_{\text{样}} \div T = 458.33 \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}})$$

#### 3. 按细菌或细胞数量计算

单位的定义：每 1 万个细菌或细胞在反应体系中每小时产生 1mg 还原糖定义为一个酶活力单位 U。

$$Cx \text{ 活性 (U/10}^4 \text{ cell)} = C_{\text{标}} \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \times V_{\text{反应}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.92 \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}})$$

#### 4. 按蛋白浓度计算

单位的定义：每 mg 组织蛋白在反应体系中每小时产生 1mg 还原糖定义为一个酶活力单位 U。

$$Cx \text{ 活性 (U/mg prot)} = C_{\text{标}} \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \times V_{\text{反应}} \div (Cpr \times V_{\text{样}}) \div T = 458.33 \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \div Cpr$$

$C_{\text{标}}$ ：标准溶液浓度，5mg/mL=5000ug/mL； $V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积，0.11mL； $W$ ：样本质量，g； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.01mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL； $T$ ：反应时间，2h，120min；500：细胞或细菌总数，500 万； $Cpr$ ：样本蛋白质浓度，mg/mL。

### 注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

### 相关产品：

PMK1204 外切-β-1, 4-葡聚糖酶/纤维二糖苷酶 (C1) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1185 β-葡萄糖苷酶 (β-GC) / 纤维二糖水解酶检测试剂盒 (微量法)

PMK1187 β-半乳糖苷酶 (β-GAL) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1181 还原糖检测试剂盒 (微量法)

PMK1175 植物可溶性糖检测试剂盒 (微量法)

PMK1174 血糖检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解，请关注公众号：

