

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

货号: PMK1204

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

β-1, 4-葡聚糖酶/纤维二糖水解酶 (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, 也是水解天然纤维素的必需组分。C1催化多聚糖链的末端非还原端水解β-葡萄糖苷键, 每次切下1个纤维二糖分子, 释放出纤维二糖和葡萄糖。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C1的活性。其原理是C1可催化微晶纤维素降解产生还原糖, 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。

产品说明书

实验步骤

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℃ 水浴 2h				
试剂二	200	200	200	200

充分混匀，95℃ 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 $\Delta A_{\text{测}}$ 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。

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

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。

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

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。

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

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。

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

$C_{\text{标}}$ ：标准溶液浓度，5mg/mL=5000ug/mL； $V_{\text{反应总}}$ ：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； C_{pr} ：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：

- PMK1203 内切-β-1, 4-葡聚糖酶 (Gx) 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：

