

## 纤维素酶（CL）/羧甲基纤维素酶检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1182

保存：4℃避光保存 6 个月

规格：48T/24S 96T/48S

适用样本：动物组织、细胞、细菌、真菌、血清（浆）等液体样本

### 产品简介

CL (EC 3.2.1.4) 存在于细菌、真菌和动物体内，能够催化羧甲基纤维素降解，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制剂。本试剂盒采用蒽酮比色法测定 CL 催化羧甲基纤维素钠降解产生的还原糖的含量，计算 CL 酶活。

### 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	20mL	40mL	4℃保存
试剂三	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	4℃避光保存
标准品（10mg 葡萄糖）	粉剂×1 支	粉剂×1 支	4℃保存

### 自备耗材

酶标仪或可见分光光度计（能测 620nm 处的吸光度）

96 孔板或微量玻璃比色皿，可调节式移液枪及枪头

制冰机，离心机，水浴锅

去离子水，浓硫酸

匀浆器

### 试剂准备

**注意：各组分（小管试剂）开盖前，请先低速离心。**

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；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂三：临用前 48T 加入 2.5mL 去离子水和 22.5mL 浓硫酸，96T 加入 5mL 去离子水和 45mL 浓硫酸，充分溶解待用；4℃避光保存一周或分装-20℃避光保存一个月。

标准品：含 10mg 无水葡萄糖，临用前加入 1mL 去离子水溶解。配制成 10mg/mL 标准溶液备用，4℃可保存 1 周，也可分装-20℃长期保存。

**标准曲线设置：**按下表所示用去离子水将 10mg/mL 标准溶液稀释为 0.4、0.2、0.1、0.05、0.025、0.0125、0.00625mg/mL 的标准溶液。

	标准品体积	去离子水体积	浓度
Std. 1	40μL 10mg/mL	960μL	0.4mg/mL

## 产品说明书

Std. 2	400 $\mu$ L of Std. 1 (0.4mg/mL)	400 $\mu$ L	0.2mg/mL
Std. 3	400 $\mu$ L of Std. 2 (0.2mg/mL)	400 $\mu$ L	0.1mg/mL
Std. 4	400 $\mu$ L of Std. 3 (0.1mg/mL)	400 $\mu$ L	0.05mg/mL
Std. 5	400 $\mu$ L of Std. 4 (0.05mg/mL)	400 $\mu$ L	0.025mg/mL
Std. 6	400 $\mu$ L of Std. 5 (0.025mg/mL)	400 $\mu$ L	0.0125mg/mL
Std. 7	400 $\mu$ L of Std. 6 (0.0125mg/mL)	400 $\mu$ L	0.00625mg/mL

**注意：每次实验，请使用新配制的标准品。**

### 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，冰浴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），然后 8,000g，4℃离心 10min，取上清液，置冰上待测。

液体样本：直接测定。

**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

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 620nm，可见分光光度计去离子水调零。
2. 操作表（在 EP 管中）：

	对照管 ( $\mu$ L)	测定管 ( $\mu$ L)	标准管 ( $\mu$ L)	空白管 ( $\mu$ L)
样本	50	50	0	0
试剂一	0	90	0	0
试剂二	370	370	0	0
去离子水	180	90	0	0
37℃振荡反应 1h 后，90℃水浴 15min（盖紧，防止水分散失），冷却后 8000, g 25℃离心 10min，取上清，得糖化液				
糖化液	150	150	0	0
标准液	0	0	150	0
去离子水	0	0	0	150
试剂三	260	260	260	260

混匀，90℃水浴 10min（盖紧，防止水分散失），冷却至室温后，取 200  $\mu$ L 转移至微量玻璃比色皿或 96 孔板中，于 620nm 处分别读取空白管、标准管、对照管和测定管吸光值，计算  $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。

**注意：空白管和标准曲线只需测定 1 次，每个测定管设一个对照管。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  $A_{\text{测定}}$  大于 2.0，需要将样本用提取液稀释，计算公式中乘以相应稀释倍数。由于浓硫酸具有强腐蚀性，请谨慎操作。**

### 结果计算

1. 标准曲线的绘制：

以标准溶液浓度为 y 轴， $\Delta A_{\text{标准}}$  为 x 轴，绘制标准曲线（浓度为 y 轴更方便计算结果）。

将  $\Delta A_{\text{测}}$  带入方程得到 y (mg/mL)。

2. CL 活性计算

- 1) 按样本鲜重计算

单位的定义：每 g 组织在反应体系中每分钟催化产生 1  $\mu$ g 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

## 产品说明书

CL 活力(U/g 鲜重)= $1000 \times y \times V_{\text{反总}} \times \text{稀释倍数} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 800 \times y \div W$

2) 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分钟催化产生 1  $\mu\text{g}$  葡萄糖定义为一个酶活力单位。

CL 活力(U / $10^4$ cells)= $1000 \times y \times V_{\text{反总}} \times \text{稀释倍数} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 1.6 \times y$

3) 按液体体积计算

单位的定义: 每 mL 液体样本在反应体系中每分钟催化产生 1  $\mu\text{g}$  葡萄糖定义为一个酶活力单位。

CL 活力(U/mL)= $1000 \times y \times V_{\text{反总}} \times \text{稀释倍数} \div V_{\text{样}} \div T = 800 \times y$

4) 按照蛋白浓度计算

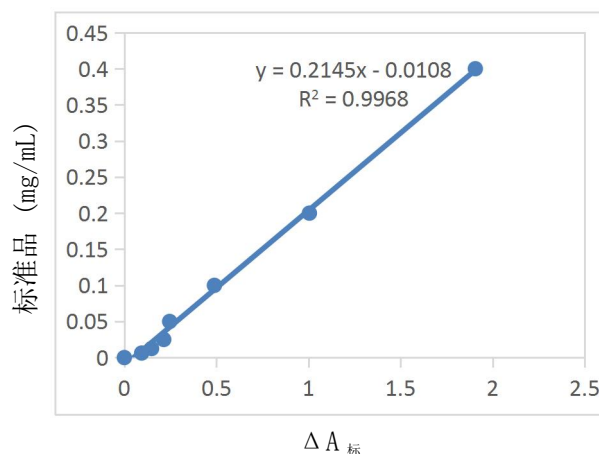
单位的定义: 每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟催化产生 1  $\mu\text{g}$  葡萄糖定义为一个酶活力单位。

CL 活力(U /mg prot)= $1000 \times y \times V_{\text{反总}} \times \text{稀释倍数} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T = 800 \times y \div C_{\text{pr}}$

1000: 单位换算 1mg/mL=1000 $\mu\text{g}$ /mL;  $V_{\text{反总}}$ : 反应体系总体积, 0.6mL; 稀释倍数:  $V_{\text{反总}} \div \text{糖化液体积 } 150 \mu\text{L} = 4$ ;  $V_{\text{样}}$ : 加入样本体积, 0.05mL;  $V_{\text{样总}}$ : 加入提取液体积, 1mL; T: 反应时间, 60min; W: 样本质量, g;  $C_{\text{pr}}$ : 样本蛋白质浓度, mg/mL; ; 500: 细菌或细胞总数, 500 万。

## 结果展示

典型标准曲线



## 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:

PMK1176 糖原检测试剂盒 (微量法)

PMK1197 总糖检测试剂盒 (微量法)

PMK1181 还原糖检测试剂盒 (微量法)

PMK1164 葡萄糖检测试剂盒 (微量法)

PMK1174 血糖检测试剂盒 (微量法)

PMK1183  $\beta$ -1,3 葡聚糖酶 ( $\beta$ -1,3-GA) 检测试剂盒 (微量法)

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

PMK1187  $\beta$ -半乳糖苷酶 ( $\beta$ -GAL) 检测试剂盒 (微量法)



更多产品详情了解, 请关注公众号: