

## 纤维素酶 (cellulase, CL) /羧甲基纤维素酶活性测定试剂盒说明书

分光光度法 50 管/24 样

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

### 测定意义:

CL (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制剂。

### 测定原理:

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。

### 组成:

产品名称	GMS022-50T/24S	Storage
提取液: 液体	50ml	4°C
试剂一: 液体	6ml	4°C
试剂二: 液体	40ml	4°C
试剂三: 粉剂	1 瓶	4°C
说明书	一份	

试剂三: 粉剂×1 瓶, 4°C保存; 临用前加入 5ml 蒸馏水和 45ml 浓硫酸充分溶解待用。

### 自备仪器和用品:

可见分光光度计、水浴锅、可调式移液器、1ml 玻璃比色皿、研钵、冰、浓硫酸和蒸馏水。

### 样品测定的准备:

- 1、细菌或培养细胞: 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 按照细菌或细胞数量 ( $10^4$  个): 提取液体积 (ml) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1ml 提取液), 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 20% 或 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 8000g 4°C离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
- 2、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 0.1g 组织, 加入 1ml 提取液), 进行冰浴匀浆。8000g 4°C离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
- 3、血清 (浆) 样品: 直接检测。

### 测定步骤:

最终解释权所有 © 伊势久 (江苏连云港) 生物科技有限责任公司, 保留一切权利



- 1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 620nm，蒸馏水调零。
- 2、加样表（在 EP 管中依次加入下列试剂）：

试剂名称	对照管	测定管
样本	100	100
试剂一 (μl)		180
试剂二 (μl)	740	740
蒸馏水 (μl)	360	180

37°C振荡反应 1h 后，90°C水浴 15min（盖紧，防止水分散失），冷却后  
8000g 25°C离心 10min，取上清，得糖化液

糖化液 (μl)	350	350
试剂三 (μl)	650	650

混匀，90°C水浴 10min（盖紧，防止水分散失），冷却，620nm 处蒸馏水调零，测定吸光值 A，计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。每个测定管设一个对照管。

### CL 活力计算：

1、标准条件下测定的回归方程为  $y = 5.018x - 0.0462$ ；x 为标准品浓度 (mg/ml)，y 为吸光值。

2、血清（浆）CL 活力的计算

单位的定义：每 ml 血清（浆）每分钟催化产生 1μg 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

CL 活力(μg /min/ml) =  $[1000 \times (\Delta A + 0.0462) \div 5.018 \times V_{\text{反总}}] \div V_{\text{样}} \div T = 39.8 \times (\Delta A + 0.0462)$

3、细胞、细菌和组织中 CL 活力的计算

(1) 按照蛋白浓度计算

单位的定义：每 mg 组织蛋白每分钟催化产生 1μg 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

CL 活力(μg /min/mg prot) =  $[1000 \times (\Delta A + 0.0462) \div 5.018 \times V_{\text{反总}}] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T$   
=  $39.8 \times (\Delta A + 0.0462) \div C_{\text{pr}}$

(2) 按样本鲜重计算

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

CL 活力(μg /min /g 鲜重) =  $[1000 \times (\Delta A + 0.0462) \div 5.018 \times V_{\text{反总}}] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T$   
=  $39.8 \times (\Delta A + 0.0462) \div W$

(3) 按细菌或细胞密度计算

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

CL 活力(μg /min / $10^4$  cell) =  $[1000 \times (\Delta A + 0.0462) \div 5.018 \times V_{\text{反总}}] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T$   
=  $0.0796 \times (\Delta A + 0.0462)$

1000: 1mg/ml=1000ug/ml; V 反总: 反应体系总体积, 1.2ml; V 样: 加入样本体积, 0.1 ml; V 样总: 加入提取液体积, 1 ml; T: 反应时间, 60 min; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/ml; W: 样本质量, g; 500: 细菌或细胞总数, 500 万。

