外切-β-1,4-葡聚糖酶/纤维二糖水解酶（CBH）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. 使用前请通读一遍说明书再开始实验。
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	105 mL×1	4℃	
试剂一	粉剂×2	4℃	临用前每支再加 1.2 mL 超纯水/蒸馏水溶解。
试剂二	12 mL×1	4℃	
试剂三	22 mL×1	4℃	

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。

四、样品制备

1. 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。10000 g，4℃离心 10 min，置于冰上，上清为待测液。

2. 细菌/细胞：提取液体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细菌/细胞加入 1 mL 提取液），冰浴超声波破碎细菌/细胞（功率 200W，超声 3 秒，间隔 7 s，总时间 3 min）；然后 10000 g，4℃，离心 10 min，置于冰上，上清为待测液。

3. 液体样本：澄清的液体的样本直接测定，若浑浊则离心后取上清液检测。

五、测定步骤

1. 酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 405 nm 处。
2. 试剂一和试剂二可提前于 37℃水浴锅加热 15~30 min。
3. 在 96 孔板中中依次加入

	测定管	对照管

样本（μL）	50	50
试剂一（μL）	20	-
超纯水/蒸馏水（μL）	-	20
试剂二（μL）	50	50
充分混匀，37℃准确水浴 30 min。		
试剂三（μL）	100	100
充分混匀，常温放置 2 min，在 405 nm 下读取吸光值，记作 A 测定管，A 对照管，计算ΔA=A 测定管-A 对照管。每个测定管需设一个对照管。		

六、计算

标准方程

标准条件下测得回归方程为：y=0.058x-0.0088，R^2=0.9999；x 为标准品浓度（nmol/mL），y 为吸光值ΔA。

1. 按样本重量计算

单位定义：每克组织每小时催化产生 1 nmol 对硝基苯酚（PNP）定义为一个酶活力单位。

外切-β-1,4-葡聚糖酶/纤维二糖水解酶活性（nmol/h/g 鲜重）=[（ΔA+0.0088）÷0.058]÷（W×V1÷V）÷T×D=689.66×（ΔA+0.0088）÷W×D

2. 按样本蛋白浓度计算

单位定义：每毫克组织蛋白每小时催化产生1 nmol对硝基苯酚（PNP）定义为一个酶活力单位。

外切-β-1,4-葡聚糖酶/纤维二糖水解酶活性（nmol/h/mg prot）=[（ΔA+0.0088）÷0.058]÷（Cpr×V1）÷T×D=689.66×（ΔA+0.0088）÷Cpr×D

3. 按细菌/细胞数量计算

单位定义：每1万个细菌或细胞每小时催化产生1 nmol对硝基苯酚（PNP）定义为一个酶活力单位。

外切-β-1,4-葡聚糖酶/纤维二糖水解酶活性（nmol/h/10^4 cell）=[（ΔA+0.0088）÷0.058]÷（N×V1÷V）÷T×D=689.66×（ΔA+0.0088）÷N×D

4. 按样本体积计算

单位定义：每毫升液体每小时催化产生1 nmol对硝基苯酚（PNP）定义为一个酶

活力单位。

外切-β-1,4-葡聚糖酶/纤维二糖水解酶活性（nmol/h//mL）=[（ΔA+0.0088）÷0.058]÷V1÷T×D=689.66×（ΔA+0.0088）×D

V1：加入样本体积，0.05 mL；V：加入提取液体积，1 mL；T：反应时间，30 min=1/2 h；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；N：细菌/细胞总数，万个。

七、产品简介

外切-β-1,4-葡聚糖酶/纤维二糖水解酶是微生物（如木霉、曲霉）分泌及部分植物体内存在的纤维素酶系核心组分。主要功能是催化结晶纤维素链非还原末端或还原末端的β-1,4-糖苷键逐步水解，释放纤维二糖或葡萄糖，是纤维素彻底降解为可发酵糖的关键限速步骤之一，与内切葡聚糖酶和β-葡萄糖苷酶协同作用完成纤维素的完全糖化，在工业生物质转化（如秸秆生物乙醇）、饲料消化率提升、纺织生物抛光及植物细胞壁代谢调控中发挥重要作用。