

纤维素酶（CL）活性检测试剂盒说明书

可见分光光度法

货号：BC2540

规格：50T/24S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 30 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 4 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 10 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 13 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	粉剂×1 支	2-8℃保存

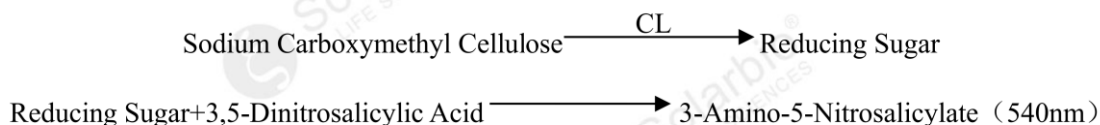
溶液的配制：

标准品：10mg 无水葡萄糖（干燥失重<0.2%）。临用前加入 1mL 蒸馏水溶解，配制成 10mg/mL 葡萄糖溶液备用，2-8℃可保存两周，或者用饱和苯甲酸溶液溶解，可保存更长时间。

产品说明：

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。

采用3,5-二硝基水杨酸法测定CL催化纤维素降解产生的还原糖的含量。



注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、水浴锅、低温离心机、可调式移液器、1mL玻璃比色皿、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

- 1、细菌或细胞：收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照每 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液，超声冰浴破碎细菌或细胞（功率 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；8000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。
- 2、组织：称取约 0.1g 组织加入 1mL 提取液，冰浴中匀浆。8000g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

二、测定步骤

- 1、分光光度计预热30min以上，调节波长至540nm，蒸馏水调零。
- 2、标准品稀释表：将标准品用蒸馏水稀释至1、0.8、0.6、0.4、0.2、0.1、0mg/mL。





序号	稀释前浓度 (mg/mL)	标准液体积 (μL)	蒸馏水体积 (μL)	稀释后浓度 (mg/mL)
1	10	100	900	1
2	1	160	40	0.8
3	1	120	80	0.6
4	1	80	120	0.4
5	1	40	160	0.2
6	1	20	180	0.1
7	1	0	200	0

备注：下述实验中每个标准管需50μL标准溶液（注意不要在此步骤直接检测标准溶液吸光度）。

3、加样表（在EP管中依次加入下列试剂）：

试剂名称 (μL)	对照管	测定管	标准管
试剂一	50	50	-
试剂二	200	200	-
蒸馏水	50	50	-
样本	-	50	-
煮沸的样本	50	-	-
混匀，40℃准确水浴30min，取出后立即放入沸水中煮沸15min（缠封口膜，防止爆盖），得糖化液			
糖化液	50	50	-
标准液	-	-	50
试剂三	150	150	150
混匀，沸水浴中煮沸显色15min（缠封口膜，防止爆盖），冷却			
蒸馏水	1050	1050	1050
混匀，取 1mL 至玻璃比色皿测定吸光值 A，计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{对照管}}$ (0 mg/mL)。标准曲线只需做 1-2 次。			
注：煮沸的样本即沸水浴 5min 的灭活样本			

三、CL活力计算

1、标准曲线的建立：

根据标准管的浓度 (y, mg/mL) 和吸光度 $\Delta A_{\text{标准}}$ (x, $\Delta A_{\text{标准}}$)，建立标准曲线。根据标准曲线，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ (x, $\Delta A_{\text{测定}}$) 带入公式计算样本浓度 (y, mg/mL)。

2、按样本蛋白浓度计算

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

$$\text{CL 活力 (U/mg prot)} = 1000 \times y \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 233 \times y \div C_{\text{pr}}$$

3、按样本质量计算

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

$$\text{CL 活力 (U/g 质量)} = 1000 \times y \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 233 \times y \div W$$

4、按细菌或细胞密度计算



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 μ g 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

CL 活力 (U/10⁴ cell) = 1000 $\times$ y $\times$ V 反总 $\div$ (500 $\times$ V 样 $\div$ V 样总) $\div$ T = 0.467 $\times$ y

1000：单位换算系数，1mg/mL=1000 μ g/mL；V 反总：反应体系总体积，0.35mL；V 样：加入样本体积，0.05 mL；V 样总：加入提取液体积，1 mL；T：反应时间，30 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。

相关发表文献：

- [1] Wang C, Zhou J, Zhang S, Gao X, Yang Y, Hou J, Chen G, Tang X, Wu J, Yuan L. Combined Metabolome and Transcriptome Analysis Elucidates Sugar Accumulation in Wucai (*Brassica campestris* L.). *Int J Mol Sci*. 2023 Mar 2;24(5):4816. doi: 10.3390/ijms24054816. PMID: 36902245; PMCID: PMC10003340.
- [2] Li X, Sheng W, Dong Q, Huang R, Dong R, Liu G, Ding X, Zhang J. Analysis of seed production and seed shattering in a new artificial grassland forage: pigeon pea. *Front Plant Sci*. 2023 May 12;14:1146398. doi: 10.3389/fpls.2023.1146398. PMID: 37251779; PMCID: PMC10213504.
- [3] Liu Z, Deng B, Yuan H, Zhang B, Liu J, Meng J, Chang M. Transcription factor FfMYB15 regulates the expression of cellulase gene FfCEL6B during mycelial growth of *Flammulina filiformis*. *Microb Cell Fact*. 2022 Oct 17;21(1):216. doi: 10.1186/s12934-022-01932-z. PMID: 36253826; PMCID: PMC9578197.
- [4] Shan C, Luo Y, Yang C, Gao X. The Effects of Poly-L-Glutamic Acid on the Postharvest Physiology and Quality of Strawberry cv. Hongyan during Cold Storage. *Foods*. 2023 Aug 3;12(15):2944. doi: 10.3390/foods12152944. PMID: 37569213; PMCID: PMC10419068.
- [5] Ma J, Zhu Y, Wang Z, Yu X, Hu R, Wang X, Cao G, Zou H, Shah AM, Peng Q, Xue B, Wang L, Zhao S, Kong X. Glutamine supplementation affected the gut bacterial community and fermentation leading to improved nutrient digestibility in growth-retarded yaks. *FEMS Microbiol Ecol*. 2021 Jul 1;97(7):fiab084. doi: 10.1093/femsec/fiab084. PMID: 34132351.

参考文献：

- [1] Faria M L, Kolling D, Camassola M, et al. Comparison of *Penicillium echinulatum* and *Trichoderma reesei* cellulases in relation to their activity against various cellulosic substrates[J]. *Biores. Technol*, 2008, 99: 1417-1424.
- [2] Pesis E, Fuchs Y, Zauberman G. Cellulase activity and fruit softening in avocado[J]. *Plant Physiology*, 1978, 61(3): 416-419.
- [3] Fred B Abeles, Fumiomi Takeda. Cellulase activity and ethylene in ripening strawberry and apple fruits[J]. *Scientia Horticulturae*, 1990, 42(4): 269-275.

相关系列产品：

BC0340/BC0345 糖原含量检测试剂盒

BC2450/BC2455 植物组织果糖（FT）含量检测试剂盒

BC2510/BC2515 海藻糖酶（THL）活性检测试剂盒

