

滤纸酶检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1203

产品规格：100管/48样

产品说明：

纤维素酶是降解纤维素生成葡萄糖一类酶的总称，它不是单体酶，而是起协同作用的多组分酶系。以不溶性纤维素如滤纸为底物测定的纤维素酶称为滤纸酶，研究滤纸酶活力对纤维素酶总体酶活力的研究的有着重要意义。

FPA水解滤纸产生还原糖，还原糖与3,5 -二硝基水杨酸反应生成在540nm有特征吸收峰的棕红色物质，通过测定540nm处吸光值变化可计算得FPA活性。

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。

产品内容：

| 试剂名称 | 规格 | 保存条件 |
|------|-----------|-------|
| 试剂一 | 液体35mL×1瓶 | 2-8°C |
| 试剂二 | 液体60mL×1瓶 | 2-8°C |
| 滤纸条 | 25mg×50条 | 室温 |
| 标准品 | 粉剂×1瓶 | 2-8°C |

溶液的配制：

- 滤纸条：常温防潮保存。
- 标准品：临用前加入1mL蒸馏水溶解，配成10mg/mL葡萄糖溶液备用，4°C可保存一周。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、台式低温离心机、水浴锅、微量玻璃比色皿/96孔板、可调式移液枪、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水、EP管（2mL）

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）：

- 组织：按照质量(g)：蒸馏水体积(mL)为1: 5~10的比例（建议称取约0.1g，加入1mL蒸馏水）加入蒸馏水，冰浴匀浆后于4°C，12000rpm离心10min，取上清置于冰上待测。
- 细胞或细菌：先收集细胞或细菌到离心管中，离心后弃上清；按照细胞或细菌数量（10⁴个）：蒸馏水体积(mL)为500~1000 : 1的比例（建议500万细胞或细菌加入1mL蒸馏水），冰浴超声波破碎细胞或细菌（功率300 w，超声3秒，间隔7秒，总时间3min）；然后4°C，12000 rpm离心10min，取上清置于冰上待测。
- 培养液或其它液体：直接检测。

二、测定操作：

- 分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至540nm，蒸馏水调零。
- 将10mg/mL标准液用蒸馏水稀释为1、0.8、0.6、0.5、0.4、0.3、0.2mg/mL的标准溶液备用。
- 取100μL样本沸水浴10min（盖紧，防止水分散失），放置常温后作为对照管。
- 操作表：(在2mL离心管中操作，其中对照管与测定管用有滤纸的EP管，空白管与标准管无需滤纸)



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号
电话：400-611-0007 13671551480
Q Q：807961520
邮箱：saintbio@126.com
http://www.saint-bio.com

| 试剂名称 (μL) | 对照管 | 测定管 | 标准管 | 空白管 |
|--|-----|-----|-----|-----|
| 煮沸样本 | 100 | - | - | - |
| 样本 | - | 100 | - | - |
| 每支Ep管中放入一个卷状滤纸条（注意要放入底部），作为底物。 | | | | |
| 标准溶液 | - | - | 100 | - |
| 蒸馏水 | - | - | - | 100 |
| 试剂一 | 250 | 250 | 250 | 250 |
| 混匀，50°C水浴锅中准确反应30min | | | | |
| 试剂二 | 400 | 400 | 400 | 400 |
| 混匀，沸水浴5min（盖紧，防止水分散失），取出后立即冷却至室温，测定540nm处吸光值A，分别记为A对照管、A测定管、A标准管、A空白管。计算ΔA=A测定管-A对照管，ΔA标准=A标准管-A空白管。 | | | | |
| 每个测定管需设一个对照管，标准曲线只需检测1-2次。 | | | | |

三、FPA活性计算

1. 标准曲线的绘制：以各个标准溶液的浓度为x轴，其对应的ΔA 标准为y轴，绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将ΔA带入方程得到x (mg/mL)。

2. FPA活性的计算：

(1) 按蛋白浓度计算

酶活定义：每mg蛋白每分钟分解滤纸产生1mg葡萄糖为1个酶活力单位。

FPA酶活 (U/mg prot) = $x \times V \text{提取} \div (V \text{提取} \times C_{\text{pr}}) \div T = 0.0333x \div C_{\text{pr}}$

(2) 按样本质量计算

酶活定义：每g样品每分钟分解滤纸产生1mg葡萄糖为1个酶活力单位。

FPA酶活 (U/g质量) = $x \times V \text{提取} \div W \div T = 0.0333x \div W$

(3) 按照细胞或细菌数量计算

酶活定义：每 10^4 个细胞每分钟分解滤纸产生1mg葡萄糖为1个酶活力单位。

FPA酶活 (U/ 10^4 cell) = $x \times V \text{提取} \div \text{细胞数量 (万个)} \div T = 0.0333x \div \text{细胞数量 (万个)}$

(4) 按液体体积计算

酶活定义：每mL样本每分钟分解滤纸产生1mg葡萄糖为1个酶活力单位。

FPA酶活 (U/mL) = $x \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} \div T = 0.0333x$

V提取：提取液（蒸馏水）体积，1mL；V样：加入的样本体积，0.1mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL，蛋白浓度自行测定；W：样本质量，g；T：反应时间，30min。

注意事项：

- 用干净的镊子取出滤纸条，带手套将滤纸条卷成小卷放入Ep管底部。
- 当A或ΔA超过1.2时，建议将样本用蒸馏水稀释后再进行测定，计算公式中乘以稀释倍数。
- 显色结束吸取检测液时注意枪头不要碰到滤纸条，以免带入毛状物，影响测定结果。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>