

纤维二糖水解酶(CBH)活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AMHD9-C24	纤维二糖水解酶(CBH)	24T	常量法
AMHD9-C48	活性测定试剂盒	48T	

一、测定意义：

纤维二糖水解酶的测定是连接“食物-微生物-宿主”的关键切入点，其意义涵盖营养代谢解析、疾病诊断、进化生物学研究及工业应用开发。通过该指标可量化动物对纤维素的利用能力，揭示肠道微生物功能状态，并为优化动物生产、防治代谢性疾病及开发绿色生物技术提供科学依据。

二、测定原理：

CBH 催化对硝基苯纤维二糖苷 (PNPC)生成对硝基苯酚，后者在 405 nm 有特征光吸收。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(24T)	试剂装量(48T)	保存条件
提取液	液体30mL×1瓶	液体60mL×1瓶	2-8℃保存
试剂一	液体30mL×1瓶	液体60mL×1瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂×1瓶	粉剂×2瓶	-20℃保存
试剂二的配制：用时每瓶粉剂加入试剂一6mL，混匀充分溶解。			
试剂三	液体30mL×1瓶	液体60mL×1瓶	2-8℃保存
标准品 (1mg/mL)	液体 1mL×1 支	液体 1mL×2 支	2-8℃保存

四、操作步骤：

样本前处理

1、组织：按照组织质量 (g) :提取液(mL)为 1:10 的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆。5000 rpm，4℃离心 10 min，取上清置冰上待测。

2、细菌、细胞：按照细胞数量 10⁴ 个：提取液体积 (mL) 500~1000:1 的比例（建议 500 万细胞加入 1 mL 提取液），冰浴超声波破碎细

胞（功率 300w，超声 3s，间隔 7s，总时间 3 min），5000 rpm，4℃离心 10min，取上清置冰上待测。

3、血清（浆）等液体：直接测定，若有浑浊请离心后取上清待测。

测定步骤

- 1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 405nm，蒸馏水调零；
- 2、测定前将试剂恢复至常温；
- 3、将 1mg/mL 标准品用蒸馏水依次稀释至 0、10、20、40、60、80、100μg/mL，备用；
- 4、操作表（在离心管中加入以下试剂）：

试剂名称	测定管	对照管	空白管	标准管
样品 (μL)	50	50	-	-
蒸馏水	-	-	50	-
不同浓度标准品 (μL)	-	-	-	50
试剂一 (μL)	400	400	400	400
试剂二 (μL)	100	-	100	100
混匀，37℃孵育30min				
试剂三 (μL)	500	500	500	500
试剂二 (μL)	-	100	-	-
混匀，静置3min，空白管调零，于波长405nm处测定各管吸光度，分别记为A _{测定} ，A _{对照} ，A _{标准} ，A _{空白} ；计算ΔA _{测定} =A _{测定} -A _{对照} ，ΔA _{标准} =A _{标准} -A _{空白} 。（标曲和空白只需做1-2次）				

五、纤维二糖水解酶(CBH)活性计算：

1、标准曲线绘制：以吸光度值为横坐标，标准品浓度为纵坐标，绘制标准曲线 $y=kx+b$ ，x 为吸光度值，y 为标准品浓度 (μg/mL)。根据标准曲线，将ΔA 带入公式计算出样本浓度 (y，μg/mL)；

2、血清样本纤维二糖水解酶(CBH)活性计算

单位定义：每 mL 液体样本每小时催化产生 1μg 对硝基酚的量为一个酶活性单位。

计算公式：CBH 活性 (U/mL) = $y \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} \div T = 2 \times y$

3、组织、细胞样本纤维二糖水解酶(CBH)活性计算

(1)按样本蛋白浓度计算

单位定义：每毫克蛋白每小时催化产生 1 μ g 对硝基酚的量为一个活力单位。

计算公式： $CBH(U/mg\ prot)=y \times V_{样} \div (V_{样} \times Cpr) \div T = 2 \times y \div Cpr$

(2)按样本鲜重计算

单位定义：每克组织每小时催化产生 1 μ g 对硝基酚的量为一个活力单位。

计算公式： $CBH(U/g)=y \times V_{样} \div (W \times V_{样} \div V_{样总}) \div T = 2 \times y \div W$

(3)按照细菌或细胞数量计算

单位定义：每 1 万个细菌或细胞每小时催化产生 1 μ g 对硝基酚的量为一个活力单位。

计算公式： $CBH(U/10^4\ cell)=y \times V_{样} \div (500 \times V_{样} \div V_{样总}) \div T$
 $=0.004 \times y$

$V_{样}$ ：加入样本体积，0.1mL； $V_{样总}$ ：加入提取液体积，1 mL；T：

反应时间，30min=0.5h；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；500：细胞/细菌数，500 万。

六、注意事项：

- 1、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；
- 2、测定过程中样本和工作液在冰上放置，以免变性和失活。

【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期：2025 年 4 月 7 日

修改日期：2025 年 4 月 7 日