

## 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-M48	纤维二糖水解酶(CBH)	48T	微量法
AMHD9-M96	活性检测试剂盒	96T	

### 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(48T)	试剂装量(96T)	保存条件
提取液	液体60mL×1瓶	液体110mL×1瓶	2-8℃保存
试剂一	液体15mL×1瓶	液体30mL×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一3mL，混匀充分溶解。			
试剂三	液体15mL×1瓶	液体30mL×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 10<sup>4</sup> 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、酶标仪预热 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)	10	10	-	-
蒸馏水	-	-	10	-
不同浓度标准品 (μL)	-	-	-	10
试剂一 (μL)	100	100	100	100
试剂二 (μL)	20	-	20	20
混匀，37℃孵育10min				
试剂三 (μL)	100	100	100	100
试剂二 (μL)	-	20	-	-
混匀，静置3min，空白管调零，取200μL于96孔板中，在波长405nm处测定各管吸光度，分别记为A <sub>测定</sub> ，A <sub>对照</sub> ，A <sub>标准</sub> ，A <sub>空白</sub> ；计算ΔA <sub>测定</sub> =A <sub>测定</sub> -A <sub>对照</sub> ，ΔA <sub>标准</sub> =A <sub>标准</sub> -A <sub>空白</sub> 。（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ΔA<sub>标准</sub>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 (U/mL) = y × V<sub>样</sub> ÷ V<sub>样</sub> ÷ T = 2 × 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 $\mu$ 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 $\mu$ 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 $\mu$ 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，0.01mL； $V_{样总}$ ：加入提取液体积，1 mL；T：

反应时间，10min；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