

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) 活性检测试剂盒	48T	微量法
AMHD9-M96		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 10^4 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 $A_{\text{测定}}$, $A_{\text{对照}}$, $A_{\text{标准}}$, $A_{\text{空白}}$ ；计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。（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 $\Delta A_{\text{标准}}$ 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： $CBH \text{ (U/mL)} = y \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} \div T = 2 \times y$

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 μg 对硝基酚的量为一个活力单位。

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

(2)按样本鲜重计算

单位定义：每克组织每小时催化产生 1 μg 对硝基酚的量为一个活力单位。

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

(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 μg 对硝基酚的量为一个活力单位。

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

$V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.01mL; $V_{\text{样总}}$: 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