

## 纤维素酶（CL）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
PMHB6-C24	纤维素酶（CL）活性检测 试剂盒	24T	常量法
PMHB6-C48		48T	

### 一、测定意义：

纤维素酶（CL）是催化纤维素降解为葡萄糖等小分子糖类的关键酶类，其活性直接关联植物细胞壁重塑与光合产物的循环利用效率。测定该酶活性可揭示植物在不同生长阶段或逆境胁迫下的物质代谢动态，为解析植物生长发育调控机制提供核心生理指标。同时，该酶也是农业废弃物资源化利用、饲料青贮发酵及生物能源生产的核心工具酶，其活性测定对优化酶制剂生产工艺、提升生物质转化效率具有重要应用价值。

### 二、测定原理：

纤维素酶可特异性催化羧甲基纤维素钠水解生成葡萄糖、纤维二糖等还原糖。向反应体系中加入 3,5-二硝基水杨酸（DNS）试剂，在一定条件下，DNS 会被还原糖还原为棕红色的 3-氨基-5-硝基水杨酸，该产物在 540nm 波长下有最大吸收峰，其吸光度值与还原糖生成量呈线性正相关，结合葡萄糖标准曲线即可计算出纤维素酶活性。

### 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 5mL×1 瓶	液体 10mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 10mL×1 瓶	液体 20mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品 (10mg)	粉剂 ×1 支	粉剂 ×2 支	2-8℃保存
标准品的配制：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℃保存两周。			

### 四、操作步骤：

#### 样本前处理

取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液），旋涡混匀抽提 3-5 分钟或者使用组织破碎仪冰浴提取，8000g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

### 测定步骤

- 分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 540nm，蒸馏水调零。。
- 测定前将试剂恢复至常温；
- 将 10mg/mL 标准品用蒸馏水依次稀释至 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7mg/mL，备用；
- 操作表（在离心管中加入下列试剂）：

试剂名称	测定管	对照管	标准管	空白管
样品（μL）	100	100	-	-
标准品（μL）	-	-	100	-
水（μL）	-	100	100	100
试剂一（μL）	100	-	-	-
涡旋混匀，50℃孵育 30min				
试剂二（μL）	250	250	250	250
混匀，沸水浴 5min，快速冷却至室温				
水（μL）	750	750	750	750
混匀，波长 540nm 测定吸光值，分别记为 $A_{\text{测定}}$ ， $A_{\text{对照}}$ ， $A_{\text{标准}}$ ， $A_{\text{空白}}$ ，计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。				

### 五、纤维素酶（CL）活性计算：

- 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）。

- 按样本鲜重计算：

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

**计算公式:**  $CL(U/g) = 1000 \times y \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 33.33 \times y \div W$

3、按样本蛋白浓度计算:

**单位定义:** 每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟催化产生 1 $\mu$ g 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

**计算公式:**  $CL(U/mg \text{ prot}) = 1000 \times y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times Cpr) \div T = 33.33 \times y \div Cpr$

1000: 单位换算系数, 1mg/mL=1000 $\mu$ g/mL;  $V_{\text{样}}$ : 加入样本体积,

0.1mL;  $V_{\text{样总}}$ : 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。

## 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、沸水反应, 盖子需要盖紧, 不能让液体挥发。

## 【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