

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
PMHF7-M48	纤维二糖水解酶（CBH）	48T	微量法
PMHF7-M96	活性检测试剂盒	96T	

一、测定意义：

纤维二糖水解酶能够将纤维二糖分解为葡萄糖，植物的碳代谢过程中起到关键作用。有助于植物将复杂的碳水化合物转化为可利用的能量形式。其活性对于细胞壁中纤维素的降解和重塑不可或缺，能够使植物细胞更好地伸展和分裂，从而促进植物的生长。

二、测定原理：

CBH 能够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，现配现用。			
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

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

- 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 96 孔板中加入以下试剂）：

试剂名称	测定管	对照管	空白管	标准管
样品（μL）	10	10	-	-
蒸馏水（μL）	-	-	10	-
不同浓度标准液（μL）	-	-	-	10
试剂一（μL）	100	100	100	100
试剂二（μL）	20	-	20	20
混匀，37℃孵育 30min				
试剂三（μL）	100	100	100	100
试剂二（μL）	-	20	-	-
混匀，静置 3min，空白管调零，于波长 405nm 测定各管吸光度，记为 A _{测定} ，A _{对照} ，A _{空白} ，A _{标准} ；计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{对照}$ ， $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白}$ 。注：空白管和标准管只需测定 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 $\Delta A_{测定}$ 带入公式计算出样本浓度（y，μg/mL）；

- 2、按样本质量计算：

单位定义：每克组织每小时催化产生 1μg 对硝基酚的量为一个活力单位。

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

$$= 2 \times y \div W$$

- 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： $CBH(U/mg\ prot) = y \times V_{\#} \div (V_{\#} \times Cpr) \div T = 2 \times y \div Cpr$

$V_{\#}$ ：加入样本体积，0.01mL； $V_{\#总}$ ：加入提取液体积，1 mL； T ：反应时间，30 min=0.5h； Cpr ：样本蛋白质浓度，mg/mL； W ：样本质量 0.1g。

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、试剂二需要密封避光保存；
- 3、为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定。

【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