

## 纤维素酶(CL)测试盒

比色法 50T/24 样

### 一、试剂盒组成:

	功 能	规 格	保 存
试剂一	缓冲液	液体, 60ml×1 瓶	4~8℃
试剂二	底物液	液体, 15ml×1 瓶	4~8℃
试剂三	显色液	液体, 10ml×1 瓶	避光 4~8℃
* 试剂四	2mg/ml 葡萄糖标准品	液体, 1ml×1 支	4~8℃

### 二、样本前处理:

样本提取详见试剂盒内说明书。测定细菌、组织和细胞时需要测定蛋白浓度。可用的总蛋白定量测试盒(考马斯亮蓝法)或者总蛋白定量测试盒(BCA 法)进行蛋白浓度的测定。

### 三、操作步骤:

#### 1、酶促反应:

	测定管	对照管
匀浆上清 (ul)	50	-
煮沸的匀浆上清 (ul)	-	50
试剂一 (ul)	50	50
试剂二 (ul)	200	200
蒸馏水 (ul)	50	50
混匀, 37℃ 孵育 30min 后, 立即取出放入沸水浴中煮沸 15min, 取出流水冷却, 4000 转/分钟常温离心 10min, 制备糖化液上清。		

#### 2、显色反应:

	空白管	标准管	测定管	对照管

糖化液上清 (ul)	-	-	50	50
蒸馏水 (ul)	50	-	-	-
2mg/ml 葡萄糖标准液(ul)	-	-	50	-
试剂三 (ul)	150	150	150	150
混匀，沸水浴反应 15min，取出流水冷却				
蒸馏水 (ul)	1000	1000	1000	1000
混匀，波长 550nm，1cm 光径，双蒸水调零，测定各管 OD 值				

#### 五、测定原理：

纤维素酶水解纤维素产生的纤维二糖、葡萄糖等还原糖能将碱性条件下的 3,5-二硝基水杨酸 (DNS) 还原，生成棕红色的氨基化合物，在 550nm 波长处有最大光吸收，在一定范围内还原糖的量与反应液的颜色强度呈比例关系，利用比色法测定其还原糖生成的量即可测定纤维素酶的活力。