

Filter paper Activity Kit

滤纸酶（FPA）试剂盒说明书

货号:BN72368 | 方法: 微板法 | 规格: 48 样

一、产品简介:

纤维素酶是由微生物产生的多组分的酶系,能水解纤维素 β -1,4 葡萄糖苷键生成葡萄糖,研究滤纸酶活力对纤维素酶的研究具有非常重要的意义。

滤纸酶水解滤纸产生的还原糖能与 3,5-二硝基水杨酸生成红棕色氨基化合物,在 540nm 处有最大光吸收,在一定范围内反应液颜色深浅与还原糖的量成正比,可测定计算得滤纸酶的活力。

二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
	滤纸条 $\times$ 100 根	4℃保存	
试剂一	液体 80mL $\times$ 1 瓶	4℃保存	
试剂二	液体 50mL $\times$ 1 瓶	4℃保存	
标准品	粉体 mg $\times$ 1 支	4℃保存	若重新做标曲,则用到该试剂。

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、天平、研钵、低温离心机、恒温水浴锅、可调式移液器。

四、滤纸酶（FPA）活性测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定,了解本批样品情况,熟悉实验流程,避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备:

- ① 组织样本:取约 0.1g 组织(水分充足的样本可取 0.5g),加入 1mL 蒸馏水,进行冰浴匀浆。4℃ $\times$ 12000rpm 离心 10min,取上清,置冰上待测。

【注】:若增加样本量,可按照组织质量(g):提取液体积(mL)为 1:5~10 的比例进行提取

- ② 细菌或培养细胞:先收集细菌或细胞到离心管内,离心后弃上清;取约 500 万细菌或细胞加入 1mL 蒸馏水,超声波破碎细菌或细胞(功率 300w,超声 3 秒,间隔 7 秒,总时间 3min);4℃ $\times$ 12000rpm 离心 10min,取上清,置冰上待测。

【注】:若增加样本量,可按照数量(10^4):提取液体积(mL)为 500-1000:1 的比例进行提取

- ③ 液体样本:若是澄清液体,直接检测,若液体样本浑浊,需 4℃ $\times$ 12000rpm,离心 10min,取上清液检测。

2、上机检测:

- ① 酶标仪预热 30min 以上,调节波长至 540nm。
- ② 所有试剂解冻至室温(25℃)。
- ③ 煮沸样本的制备:可取至少 300 μ L 待检测样本上清液于 95-100℃煮沸 10min 后,于室温或 4℃ $\times$ 12000rpm 离心 10min,上清液即为对照管的待检液。
- ④ 在 EP 管中依次加入:

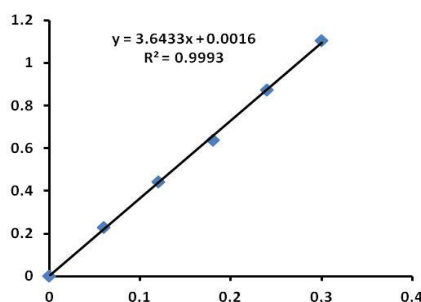
试剂名称(μ L)	测定管	对照管
样本	100	100(煮沸样本)
滤纸条	1 根	1 根
试剂一	800	800

50℃孵育 60min		
试剂二	400	400
混匀，沸水浴（95-100℃）5min，冷却至室温		
蒸馏水	400	400
混匀，取出 200μL 待检液至 96 孔板中，于 540nm 处读取吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ （每个样本做一个样本自身对照）。		

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；
针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、标准曲线方程为： $y = 3.6433x + 0.0016$ ，x 是标准品质量（mg），y 是 ΔA 。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

2、按照蛋白浓度计算：

定义：50℃下，每毫克蛋白每小时分解滤纸产生 1mg 葡萄糖所需酶量为一个酶活单位。

$$\text{FPA}(\text{mg/h/mg prot}) = [(\Delta A - 0.0016) \div 3.6433] \div (V1 \times \text{Cpr}) \div T \times D = 2.74 \times (\Delta A - 0.0016) \div \text{Cpr} \times D$$

3、按照样本质量计算：

定义：50℃下，每克组织每小时分解滤纸产生 1mg 葡萄糖所需的酶量为一个酶活单位。

$$\text{FPA}(\text{mg/h/g}) = [(\Delta A - 0.0016) \div 3.6433] \div (W \times V1 \div V) \div T \times D = 2.74 \times (\Delta A - 0.0016) \div W \times D$$

4、按液体体积计算：

定义：50℃下，每毫升液体每小时分解滤纸产生 1mg 葡萄糖所需酶量为一个酶活单位。

$$\text{FPA}(\text{mg/h/mL}) = [(\Delta A - 0.0016) \div 3.6433] \div V1 \div T \times D = 2.74 \times (\Delta A - 0.0016) \times D$$

5、按细胞数量计算：

定义：50℃下，每 10^4 个细胞每小时分解滤纸产生 1mg 葡萄糖所需酶量为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{FPA}(\text{mg/h}/10^4\text{cell}) &= [(\Delta A - 0.0016) \div 3.6433] \div (V1 \times \text{细胞数量} \div V) \div T \times D \\ &= 2.74 \times (\Delta A - 0.0016) \div \text{细胞数量} \times D \end{aligned}$$

V—提取液体积，1mL； V1—反应体系中加入样本体积，0.1mL；

W—样本质量，g； T—反应时间，60min=1 小时； D—稀释倍数，未稀释即为 1；

Cpr—样本蛋白浓度，mg/mL；建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。