CheKine™ 土壤外切β-1,4-葡聚糖酶/纤维二糖水解酶（S-C1）活性检测试剂盒（微量法）

货号: KTB4038　　规格: 48 T/48 S　96 T/96 S　　批号：见产品标签

≠	**检测范围：**40-600 μg/mL (36.8-552 U/g 土壤)		**灵敏度：**40 μg/mL (36.8 U/g 土壤)
	适用样本：土壤		
	保质期：4℃，避光保存 6 个月		

01 背景与原理

外切β-1,4-葡聚糖酶/纤维二糖水解酶（C1，EC 3.2.1.91）存在于细菌、真菌和动物体内，是纤维素酶系的组份之一，C1 催化多聚糖链的末端非还原端释放出纤维二糖和葡萄糖。

本试剂盒检测原理是 3,5-二硝基水杨酸法测定 S-C1 催化微晶纤维素降解产生的还原糖的含量，生成的棕红色氨基化合物在 540 nm 有特征光吸收，在一定范围内 540 nm 光吸收增加速率与 S-C1 活性成正比。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Extraction Buffer	60 mL	120 mL	4℃
Reagent Ⅰ	6 mL	12 mL	4℃，避光保存
Reagent Ⅱ	30 mL	60 mL	4℃，避光保存
Standard	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃

***请在实验前检查各组分的量。**

***各组分在规格基础上额外提供 10%的量用于进行标准曲线制作或预实验。**

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 540 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	去离子水	稀释标准品、检测用
其他	恒温箱、水浴锅、低温离心机、30-50 目筛、可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有助于提高实验效率

04 注意事项

- **正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。**
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 建议实验者自行建立标准曲线以提高结果准确度。如未自行建立标准曲线，可参考结果展示部分的典型标准曲线公式进行结果计算。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，**请在实验全程做好生物安全防护**，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

05-1-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Extraction Buffer	即用型；使用前，平衡到室温	4℃保存
Reagent Ⅰ	即用型；使用前，平衡到室温	4℃避光保存；浑浊或出现白色沉淀是正常现象，使用前摇晃数次混匀
Reagent Ⅱ	即用型；使用前，平衡到室温	4℃避光保存；有一定刺激性，注意防护
10 mg/mL Standard	临用前配制；加入 1 mL 去离子水，充分溶解，即 10 mg/mL 葡萄糖标准品	未用完的试剂 4℃保存 2 周

05-1-2 标准品配制

使用 10 mg/mL 葡萄糖标准品，按照下表所示，进一步稀释标准品。每次实验都要做一次标准品检测，制作标曲；稀释后的标准品溶液不稳定，必须在 4 小时内使用。

序号	标准品（μL）	去离子水（μL）	浓度（μg/mL）
1	60 μL of 10 mg/mL	940	600
2	600 μL of 600 μg/mL	300	400
3	600 μL of 400 μg/mL	600	200
4	600 μL of 200 μg/mL	600	100
5	800 μL of 100 μg/mL	200	80
6	500 μL of 80 μg/mL	500	40
空白	0	100	0

05-2 样本制备

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。

- 新鲜土样自然风干或 37℃烘箱风干，过 30-50 目筛。称取约 0.1 g 风干土样，加入 1 mL Extraction Buffer，用匀浆器或研钵冰浴匀浆，室温震荡提取 30 min，然后 10000 g，4℃离心 10 min，取上清液，置冰上待测。

05-3 实验步骤

1. **酶标仪准备**：预热 30 min 以上，调节波长到 540 nm。
2. **检测体系配制**：在 1.5 mL 离心管中按照如下方式操作，空白管和标准管只需做 1-2 次，每个测定管均需设置一个对照管。

试剂	测定管（μL）	对照管（μL）	标准管（μL）	空白管（μL）
样本	10	10	0	0
Reagent Ⅰ	100	0	0	0
去离子水	0	100	0	0
混匀，37℃准确反应 2 h			0	0
Standard	0	0	110	0
去离子水	0	0	0	110
Reagent Ⅱ	200	200	200	200
混匀，沸水浴 10 min（盖紧，以防止水分散失），流水冷却至室温后 5000 g，室温离心 5 min				

3. **吸光度检测：**取 200 μL 至 96 孔板中，记录 540 nm 处吸光值。测定管记为 $A_{测定}$，对照管记为 $A_{对照}$，标准管记为 $A_{标准}$，空白管记为 $A_{空白}$。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧**二维码**或访问官网[https://www.abbkine.cn]>进入“**技术中心**”>查找“**在线计算器**”**工具**。

06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算$\Delta A_{测定}=A_{测定}-A_{对照}$，$\Delta A_{标准}=A_{标准}-A_{空白}$。

2. 标准曲线绘制

以标准品浓度为 y 轴，$\Delta A_{标准}$为 x 轴，绘制标准曲线。将$\Delta A_{测定}$代入方程得到 y 值（μg/mL）。

3. S-C1 活性的计算

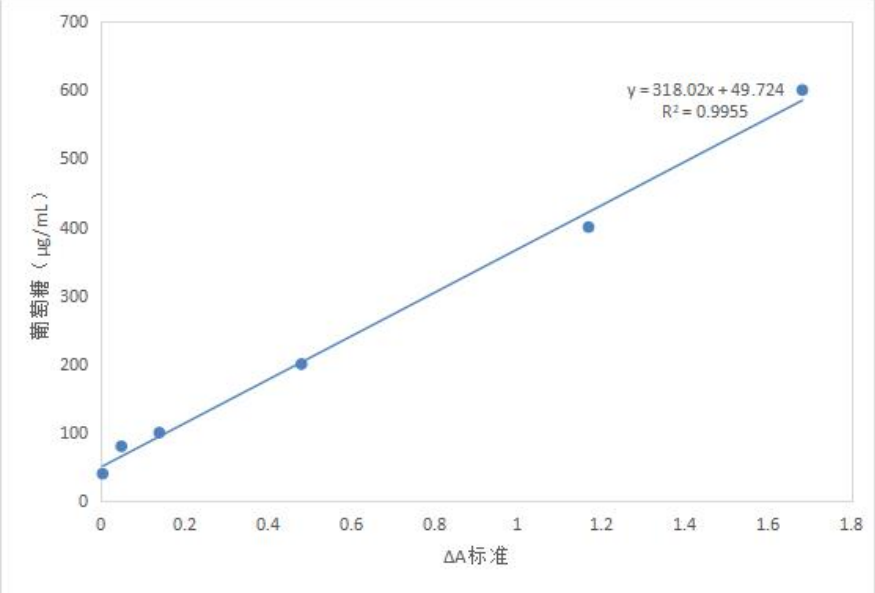
酶活单位定义：37℃每克土样每分钟催化产生 1 μg 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

S-C1 (U/g)=$y\times V_{反总}\div(V_{样}\times W\div V_{样总})\div T$**=0.092×y÷W**

$V_{反总}$：酶促反应体积，0.11 mL；$V_{样}$：加入样本体积，0.01 mL；$V_{样总}$：加入 Extraction Buffer 体积，1 mL；T：反应时间，2 h=120 min；W：样本质量，g。

07 结果展示

典型标准曲线：y=318.02x+49.724，R^2=0.9955



示例-1：取 0.1 g 经 37℃烘箱风干后的新鲜土样，按上述步骤检测，使用 96 孔板测得$\Delta A_{测定}=A_{测定}-A_{对照}$ =0.478-0.097=0.381，代入方程得 y=170.9，计算活性得：S-C1 (U/g)**=0.092×y÷W**=157.2 U/g。

08 FAQ

- **检测得到的样本$\Delta A_{测定}$过高或者过低怎么办？**

如果样本$\Delta A_{测定}$高于 600 μg/mL 的$\Delta A_{标准}$，需用 Extraction Buffer 适当进行稀释后，重新进行测定，或减少提取用样本量。如果样本的$\Delta A_{测定}$低于 40 μg/mL 的$\Delta A_{标准}$，可适当提高样本量。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB4012	CheKine™ 土壤硝态氮含量检测试剂盒（微量法）
KTB4014	CheKine™ 土壤速效磷含量检测试剂盒（微量法）
KTB4041	CheKine™ 土壤碱性磷酸酶（S-AKP/ALP）活性检测试剂盒（微量法）
KTB4050	CheKine™ 土壤过氧化氢酶（S-CAT）活性检测试剂盒（微量法）

CheKine™ 土壤外切β-1,4-葡聚糖酶/纤维二糖水解酶（S-C1）活性检测流程示意图

（Abbkine 货号：KTB4038）

样本处理



自然风干或37℃烘箱风干，过30-50目筛。
称取约0.1 g加入1 mL Extraction Buffer，冰浴匀浆，
室温震荡提取30 min



10000 g，4℃离心10 min，取上清



体系配置

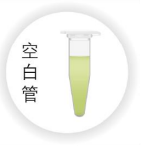
标准品配制



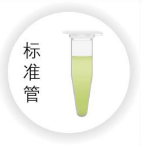
样本 10 μL
Reagent Ⅰ 100 μL



样本 10 μL
去离子水 100 μL



去离子水 110 μL
Reagent Ⅱ 200 μL



Standard 110 μL
Reagent Ⅱ 200 μL

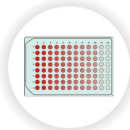
混匀，37℃准确反应2 h

Reagent Ⅱ 200 μL

Reagent Ⅱ 200 μL

混匀，沸水浴10 min，流水冷却至室温，
5000 g，室温离心5 min，取200 μL至96孔板中

数据检测



测定540 nm处吸光度，结果计算

V1.0