

CheKine™ 纤维素酶 (CL) 活性检测试剂盒 (微量法)

货号: KTB1721

规格: 48 T/24 S

96 T/48 S

批号: 见产品标签

	适用样本: 土壤和腐败/衰老植物
	保质期: 4℃, 避光保存 24 个月

01 背景与原理

纤维素酶 (EC 3.2.1.4) 是一类由微生物 (如放线菌、细菌、真菌) 以及部分动物产生的、能够协同作用于纤维素聚合物并将其降解为还原糖的多酶体系。纤维素酶的活性检测在多个研究领域具有重要应用, 尤其广泛应用于环境微生物学、土壤生态学、植物病理学及生物质能源开发等领域。例如, 在腐殖土壤中, 纤维素酶的活性可反映有机物的分解程度与微生物代谢活力; 在衰老或腐败的植物组织中, 纤维素酶活性常显著升高, 是评估植物组织老化、病害侵染及降解程度的关键指标。

本试剂盒检测原理是纤维素酶催化底物水解纤维素释放葡萄糖、纤维二糖、纤维寡糖等还原糖。还原糖可将 Cu (II)-新亚铜试剂络合物转化为亮橙色的 Cu (I)-新亚铜试剂络合物。通过 450 nm 处吸光度的大小来测定纤维素酶的活性。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Reagent I	60 mL	120 mL	4℃
Reagent II	6 mL	12 mL	4℃, 避光保存
Reagent III	4 mL	8 mL	4℃, 避光保存
Reagent IV	5 mL	10 mL	4℃, 避光保存
Reagent V	4 mL	8 mL	4℃
Standard	2 mL	2 mL	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 450 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	去离子水	标准品稀释用
其他	匀浆器、30~50 目筛网、水浴锅/金属浴、恒温箱、冰盒、低温离心机、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
Reagent I	即用型	实验过程中冰上放置；4℃保存
Reagent II	即用型；使用前平衡到室温	试剂略黏稠，注意缓慢吸取，确保吸取的体积准确；4℃避光保存
Reagent III	即用型；使用前平衡到室温	4℃避光保存
Reagent IV	即用型；使用前平衡到室温	试剂易挥发，每次使用后注意密封。4℃避光保存
Reagent V	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Standard	即用型；使用前平衡到室温	标准品浓度为 2 mmol/L；4℃保存

05-1-2 标准品配制

使用 2 mmol/L 标准品溶液，按照下表所示进行稀释。每次实验都要做一次标准品检测，制作标曲。

序号	标准品 (μL)	去离子水 (μL)	浓度 (mmol/L)
1	200 μL of 2 mmol/L	200	1
2	200 μL of 1 mmol/L	200	0.5
3	200 μL of 0.5 mmol/L	200	0.25
4	200 μL of 0.25 mmol/L	200	0.125
5	200 μL of 0.125 mmol/L	200	0.0625
6	200 μL of 0.0625 mmol/L	200	0.03125
7	200 μL of 0.03125 mmol/L	200	0.015625
空白	0	200	0

05-2 样本制备

注意：建议使用新鲜样本。如果不能当天提取，则把分装的土壤样本保存在-80℃，一个月内使用。当准备好进行该项实验时，将样本从-80℃拿出后，在冰上解冻。但是请注意，这可能会影响样本的稳定性，实验结果可能会低于预期。

- **土壤样本：**新鲜土壤样本自然风干或 37℃烘箱风干，过 30~50 目筛。按照土壤质量(g): Reagent I 体积(mL) 为 1: 9 的比例，每 0.1 g 土壤样本加入 0.9 mL Reagent I，冰浴匀浆。4℃，12000 g 离心 10 min，取上清，置于冰上待测。
- **腐败/衰老植物样本：**称取 0.1 g 组织样本，按照组织质量(g): Reagent I 体积(mL)为 1: 9 的比例，加入 0.9 mL Reagent I，冰浴匀浆。4℃，12000 g 离心 10 min，取上清，置于冰上待测。

05-3 实验步骤

注意：糖化液略黏稠，吸取加入 96 孔板前建议润洗枪头，缓慢加入确保加入体积准确。沸水浴可用金属浴替代，确保温度达到 100℃即可。

1. **酶标仪准备：**预热 30 min 以上，调节波长到 450 nm。
2. **工作液的配制：**临用前配制，按照每孔配制 150 μL 工作液，现配现用，避光保存。吸取 50 μL Reagent III和 50 μL Reagent IV混匀，然后加入 50 μL Reagent V混匀，配制体积比 1: 1: 1。禁止调换工作液配制时试剂加入顺序。

3. 检测体系配制：在 EP 管/拧盖离心管中按照如下方式操作。

试剂	空白孔 (μL)	标准孔 (μL)	测定孔 (μL)	对照孔 (μL)
Reagent I	0	0	0	160
Reagent II	0	0	160	0
样本	0	0	40	40

充分混匀后，50℃水浴 1 h。孵育结束后，将上述 EP 管放入沸水中煮沸 15 min，流水冷却至室温后，12000 g 室温离心 10 min，取上清（糖化液）混匀待测。下述操作在 96 孔板中操作：

标准品	0	100	0	0
去离子水	100	0	0	0
糖化液	0	0	100	100
工作液	150	150	150	150

4. 吸光度检测：充分混匀，37℃孵育 40 min，测定 450 nm 处吸光值，分别标记为 A_{空白}、A_{标准}、A_{测定}、A_{对照}。

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[\[https://www.abbkine.cn\]](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 $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白}$ ， $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{对照}$ 。

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（mmol/L）。

3. 样本纤维素酶活性计算

- 按样本质量计算

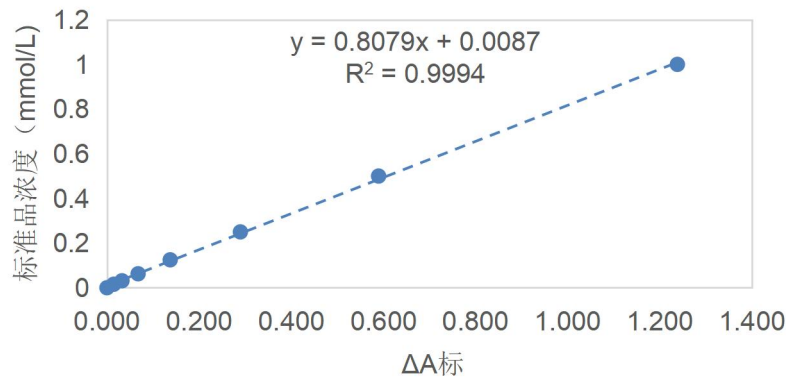
酶活性单位的定义：每克样本每分钟催化生成 1 μg 葡萄糖定义为 1 个酶活单位，单位为 U/g。

纤维素酶活性(U/g)=(y×V_{反总}×180.16)÷(W×V_样÷V_{样总})÷T=y×13.512÷W

V_{样总}：加入 Reagent I 的总体积，0.9 mL；V_样：上样体积，0.04 mL；V_{反总}：酶促反应总体积，0.2 mL；W：样本质量，g；T：酶促反应时间，60 min；180.16：葡萄糖微摩尔质量μg/μmol。

07 结果展示

典型标准曲线： $y=0.8079x+0.0087$ ， $R^2=0.9994$



示例-1: 取 0.1 g 土壤样本, 按照测定步骤操作, 用 96 孔板进行检测。测得 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} = 0.271 - 0.179 = 0.092$, 代入标准曲线, 计算 $y = 0.083$ 。按照样本质量计算得: 纤维素酶活性 (U/g) $= y \times 13.512 \div W = 11.215 \text{ U/g}$

08 FAQ

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

如果样本的 $\Delta A_{\text{测定}}$ 高于 1 mmol/L 标准品的 $\Delta A_{\text{标准}}$, 则说明样本中纤维素酶活性较高, 需用 Reagent I 适当稀释, 再重新进行测定。如果样本的 $\Delta A_{\text{测定}} < 0.01$, 可适当提高样本量 (土壤和腐败/衰老植物组织克重), 或者减少 Reagent I 用量, 再重新进行测定。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB4038	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)
KTB1360	CheKine™ 还原糖含量检测试剂盒 (微量法)
KTB1322	CheKine™ β-葡萄糖苷酶 (β-GC) 活性检测试剂盒 (微量法)
KTB4022	CheKine™ 土壤β-葡萄糖苷酶 (S-β-GC) 活性检测试剂盒 (微量法)

CheKine™ 纤维素酶（CL）活性检测流程示意图

(Abbkine 货号：KTB1721)

样本处理



土壤样本

新鲜土壤样本自然风干或37°C烘箱风干，过30~50目筛。称取0.1 g土壤样本加入0.9 mL Reagent I,冰浴匀浆



腐败/衰老植物样本

称取0.1 g样本加入0.9 mL Reagent I,冰浴匀浆



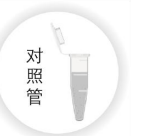
4°C，12000 g离心10 min，取上清，置于冰上待测



工作液的配制：临用前配制，按照每孔配制150μL工作液，现配现用，避光保存。吸取50 μL Reagent III和50 μL Reagent IV混匀，然后加入50 μL Reagent V混匀，配制体积比1: 1: 1。禁止调换工作液配制时试剂加入顺序。



测定管
Reagent II 160 μL
样本 40 μL



对照管
Reagent I 160 μL
样本 40 μL

体系配置

标准品配制



标准孔

标准品 100μL
工作液 150μL



空白孔

去离子水 100μL
工作液 150μL



测定孔

糖化液 100μL
工作液 150μL

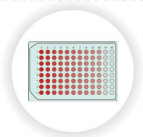


对照孔

糖化液 100μL
工作液 150μL

充分混匀后，50°C水浴1h。孵育结束后，将上述EP管放入沸水中煮沸15 min，流水冷却至室温后，12000 g室温离心10 min，取上清（糖化液）混匀待测

数据检测



充分混匀，37°C孵育40 min，测定450 nm处的吸光值
结果计算