



滤纸酶活性检测试剂盒

FPA Assay Kit

微量法

产品编号：AK400M

产品规格：100T/48S

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
AK400-A	25mL×1 瓶	4℃保存
AK400-B	40mL×1 瓶	4℃保存
滤纸条：	25mg×50 条	室温保存
AK400-标准品	粉剂×1 支	临用前加入 1 mL 蒸馏水溶解，配成 10 mg/mL 溶液备用；4℃保存

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介：

意义：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，滤纸酶（Filter paper activity, FPA）可水解滤纸生成还原糖。滤纸酶活性可反映纤维素酶3种水解酶，即外切葡聚糖酶、内切葡聚糖酶和β-葡聚糖苷酶组成的诱导复合酶系协同作用后的总酶活。研究滤纸酶活力对纤维素酶的研究具有非常重要的意义。

原理：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。

自备用品：

可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板、天平、研钵、低温离心机、恒温水浴锅。

酶液提取

- 组织：按照质量（g）：蒸馏水体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g，加入 1mL 蒸馏水）加入蒸馏水，冰浴匀浆后于 4℃，12000rpm 离心 10min，取上清置于冰上待测。
- 细胞：按照细胞数量（10⁴个）：蒸馏水体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细胞加入 1mL 蒸馏水），冰浴超声波破碎细胞（功率 300w，超声 3 秒，间隔 7 秒，总时间 3min）；然后 4℃，12000rpm 离心 10min，取上清置于冰上待测。
- 培养液或其它液体：直接检测。

测定步骤：

- 根据样本数量取两倍数量的滤纸条和 Ep 管，每支 Ep 管中放入一个卷状滤纸条（注意要放入底部），作为底物。
- 将 10 mg/mL 标准液用蒸馏水稀释为 2、1.6、1.2、0.8、0.5、0.2mg/mL 的标准溶液备用。
- 按照表达操作：

试剂名称	测定管（μL）	对照管（μL）	标准管（μL）	空白管（μL）
灭活的酶液		100		
酶液	100			
AK400-A	250	250	250	250
充分混匀，再分别加入放有滤纸条的 Ep 管中，标注为对照管和测定管。				
	滤纸条	滤纸条		
标准溶液			100	
蒸馏水				100
对照管和测定管同时置于 50℃水浴锅中反应 30min。				

AK400-B	400	400	400	400
沸水浴 5min, 自来水冷却后取 200 μ L 于微量石英比色皿/96 孔板中测定 540nm 处吸光值, 分别记为 A 对照管、A 测定管、A 标准管、A 空白管。计算 ΔA 测定=A 测定管-A 对照管, ΔA 标准=A 标准管-A 空白管。每个测定管需设一个对照管, 标准曲线和空白管只需检测 1-2 次。				

酶活性计算公式:

1. 标准曲线的绘制:

根据标准管的浓度 (x, mg/mL) 和吸光度 ΔA 标准 (y, ΔA 标准), 建立标准曲线。根据标准曲线, 将 ΔA 测定 (y, ΔA 测定) 带入公式计算样本浓度 (x, mg/mL)。

2. 酶活性的计算

(1) 按蛋白浓度计算

酶活定义: 每 mg 蛋白每分钟分解滤纸产生 1 mg 葡萄糖为 1 个酶活力单位。

$$\text{FPA 酶活 (U/mg prot)} = x \times V_{\text{提取}} \div (V_{\text{提取}} \times \text{Cpr}) \div T = 0.0333x \div \text{Cpr}$$

(2) 按样本质量计算

酶活定义: 每 g 样品每分钟分解滤纸产生 1 mg 葡萄糖为 1 个酶活力单位。

$$\text{FPA 酶活 (U/g 质量)} = x \times V_{\text{提取}} \div W \div T = 0.0333x \div W$$

(3) 按照细胞或细菌数量计算

酶活定义: 每 10⁴ 个细胞每分钟分解滤纸产生 1 mg 葡萄糖为 1 个酶活力单位。

$$\text{FPA 酶活 (U/10}^4 \text{ cell)} = x \times V_{\text{提取}} \div \text{细胞数量 (万个)} \div T = 0.0333x \div \text{细胞数量 (万个)}$$

(4) 按液体体积计算

酶活定义: 每 mL 样本每分钟分解滤纸产生 1 mg 葡萄糖为 1 个酶活力单位。

$$\text{FPA 酶活 (U/mL)} = x \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} \div T = 0.0333x$$

V 提取: 提取液 (蒸馏水) 体积, 1 mL; V 样: 加入的样本体积, 0.1 mL; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL, 蛋白浓度自行测定; W: 样本质量, g; T: 反应时间, 30 min。

注意事项:

1. 用干净的镊子取出滤纸条, 带手套卷成卷放入 Ep 管底部。
2. 样本灭活时保证同一批样本处理时间一致, 建议沸水浴十分钟。
3. 批量样本测定之前先做 1-2 个样本的预实验, 若吸光值超过 1.2, 建议将样本用蒸馏水稀释后再进行测定, 计算公式中乘以稀释倍数。
4. 显色后取检测液时注意枪头不要碰到滤纸条, 以免带入毛状物, 影响测定结果。

※ 蛋白定量检测建议使用本公司: BCA Protein Assay Kit ([C05-02001](#))