

滤纸酶（FPA）活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PYHB1-M48	滤纸酶（FPA）活性检测	48T	微量法
PYHB1-M96	试剂盒	96T	微量法

一、测定意义：

纤维素酶（CL）是一类能够将纤维素降解为葡萄糖的多组分酶系总称，通过协同作用分解纤维中 β -1,4-葡萄糖苷键，使其转变为纤维二糖和寡糖，最终水解为葡萄糖，其产物为微生物可优先利用的碳源营养物质，滤纸酶（FPA）活力对纤维素酶的研究具有重要意义。

二、测定原理：

滤纸酶能够催化滤纸降解生成还原糖，进一步与 3,5-二硝基水杨酸反应，生成棕红色氨基化合物，产物在 540 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征滤纸酶的活性。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(48T)	试剂装量(96T)	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 120mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂一	液体 28mL×1 瓶	液体 56mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂二	液体 45mL×1 瓶	液体 90mL×1 瓶	2~8℃保存
滤纸条	50 mg×100 条	50 mg×200 条	RT 保存
标准品 (10mg/mL)	粉剂 ×1 支	粉剂 ×1 支	2~8℃保存

标准品的配制：使用前加入 1 mL 蒸馏水充分溶解。

四、操作步骤：

样本前处理

1、组织：按照组织质量（g）:提取液体积（mL）为 1:5~10 的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆。5000 rpm，4℃离心 10 min，取上清置冰上待测。

2、细菌、细胞：按照细胞数量 10^4 个：提取液体积（mL）500~1000:1

的比例（建议 500 万细胞加入 1 mL 提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率 300w，超声 3s，间隔 7s，总时间 3 min），5000 rpm，4℃离心 10min，取上清置冰上待测。

3、血清（浆）等液体：直接测定。

测定步骤

1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 540nm。

2、测定前将试剂恢复至室温；

3、将 10mg/mL 标准品用蒸馏水依次稀释至 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1mg/mL，备用；

4、样本测定（在离心管中依次加入下列试剂）：

试剂名称	测定管	对照管	空白管	标准管
煮沸样品（ μ L）	100	-	-	-
样品（ μ L）	-	100	-	-
滤纸条（个）	1	1	-	-
标准品（ μ L）	-	-	-	100
蒸馏水（ μ L）	-	-	100	-
试剂一（ μ L）	250	250	250	250
充分混匀，50℃准确反应 30 min				
试剂二（ μ L）	400	400	400	400

沸水浴处理 5 min（密封以防止水分散失），冷却至室温。吸取 200 μ L 反应液至 96 孔板中，测定 540 nm 处吸光值，记为 $A_{\text{测定}}$ 、 $A_{\text{对照}}$ 、 $A_{\text{标准}}$ 和 $A_{\text{空白}}$ ；计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。注：空白管只需测定 1-2 次，每个样品均需设一个对照管。

注：建议使用干净的镊子取出滤纸条，带手套将滤纸条制为卷状后放入离心管底部。

五、滤纸酶（FPA）活性测定：

1、标准曲线绘制：以 ΔA 标准吸光度值为横坐标，标准品浓度为纵坐标，绘制标准曲线 $y = kx + b$ ， x 为吸光度值， y 为标准品浓度浓

度 ($\mu\text{g/mL}$)。根据标准曲线, 将 ΔA 测定带入公式计算出样本浓度 (y , $\mu\text{g/mL}$);

2、血清样本 FPA 计算

单位定义: 每 mL 液体样本每分钟催化生成 1 mg 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

计算公式: $\text{FPA (U/mL)} = y \div T = 0.033 \times y$

3、组织、细胞样本 FPA 计算

(1) 按样本蛋白浓度计算

单位定义: 每 mg 组织蛋白每分钟催化生成 1 mg 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

计算公式: $\text{FPA (U/mg prot)} = y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 0.033 \times y \div \text{Cpr}$

(2) 按样本鲜重计算

单位定义: 每 g 组织样本每分钟催化生成 1 mg 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

计算公式: $\text{FPA(U/g)} = y \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.033 \times y \div W$

(3) 按照细菌或细胞数量计算

单位定义: 每 1 百万个细菌或细胞每分钟催化产生 1 mg 葡萄糖的量为一个酶活力单位。

计算公式: $\text{FPA (U/10}^6 \text{ cell)} = y \times V_{\text{样}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.006 \times y$

V样: 加入样本体积, 0.1mL;

V 样总: 加入提取液体积, 1 mL;

T: 反应时间, 30min;

Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL;

500: 细胞/细菌数, 500 万;

六、 注意事项:

1、实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测;

2、若测定吸光值超出标准吸光值线性范围: 高于最高值建议将粗酶液适当稀释后再进行; 低于最低值建议适当增加样本量或延长反应时间后再进行测定, 计算时相应修改。

【厂家信息】

生产企业: 南京陌凡生物科技有限公司

地址: 南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期: 2025 年 4 月 7 日

修改日期: 2025 年 4 月 7 日