

# 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-C24	滤纸酶（FPA）活性检测试剂盒	24T	常量法
PYHB1-C48		48T	常量法

## 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  $\beta$ -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(24T)	试剂装量(48T)	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 30mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂二	液体 50mL×1 瓶	液体 100mL×1 瓶	2~8℃保存
滤纸条	50 mg×30 条	50 mg×60 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(建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液)进行冰浴匀浆，然后 15000g,4℃, 离心 10min,取上清置于冰上待测。

2、细胞或细菌：按照细胞或细菌数量(10<sup>4</sup> 个):提取液体积 (mL)为 500~1000:1 的比例(建议 500 万个 细胞或细菌加入 1mL 提取液),

冰浴超声波破碎细胞或细菌(功率 300w, 超声 3 秒, 间隔 7 秒, 总时间 3min); 然后 15000g,4℃,离心 10min, 取上清置于冰上待测。

3、液体：直接检测。(若溶液有浑浊则离心后取上清测定)

### 测定步骤

1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 540nm,蒸馏水调零。

2、测定前将试剂恢复至室温；

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 (μL)	200	-	-	-
样品 (μL)	-	200	-	-
滤纸条 (个)	1	1	-	-
标准品 (μL)	-	-	-	200
蒸馏水 (μL)	-	-	200	-
试剂一 (μL)	500	500	500	500
充分混匀，50℃准确反应 30 min				
试剂二 (μL)	800	800	800	800
沸水浴处理 5 min (密封以防止水分散失)，冷却至室温，测定 540 nm 处吸光值，记为 A <sub>测定</sub> 、A <sub>对照</sub> 、A <sub>标准</sub> 和 A <sub>空白</sub> ；计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{对照}$ ， $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白}$ 。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。

### 一、滤纸酶（FPA）活性测定：

1、标准曲线绘制：以  $\Delta A$  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 (μg/mL)。根据标准曲线，将  $\Delta A$  测定带入公式计算出样本浓度 (y, μg/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：** $FPA (U/mL) = y \div T = 0.033 \times y$

### 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：** $FPA (U/mg \text{ prot}) = y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 0.033 \times y \div C_{\text{pr}}$

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

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

V样：加入样本体积，0.2mL；

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