

β-木糖苷酶 (β-xylosidase) 测定试剂盒说明书

分光光度法

货号：BC2620

规格：50 管/24 样

产品内容：

提取液：液体 50mL×1 瓶，4℃ 保存。

试剂一：液体 2mL×1 瓶，4℃ 避光保存。

试剂二：液体 35mL×1 瓶，4℃ 保存。

试剂三：液体 35mL×1 瓶，4℃ 保存。

标准液：液体 1ml×1 支，4℃ 保存，10μmol/ml 对硝基苯酚溶液。

产品说明：

β-木糖苷酶(EC3.2.1.37)存在于植物、细菌和真菌等生物体，是催化木聚糖类半纤维素降解的关键酶，产物木糖可作为碳源应用于微生物发酵。另外，β-木糖苷酶还可以作为生物漂白剂应用于造纸工业，比传统的漂白法环保，具有广泛的应用价值。

β-木糖苷酶催化对硝基苯酚-β-D-木糖苷产生对硝基苯酚，对硝基苯酚在 405nm 处有特征吸收峰，测定 405nm 光吸收增加速率，可计算β-木糖苷酶活性。

自备实验用品及仪器

天平、低温离心机、可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿和蒸馏水。

操作步骤：

一、粗酶液提取

1. 植物样本：称取约 0.1g 样品，加 1.0 mL 提取液充分冰浴匀浆，然后 12000rpm，4℃，离心 20min，弃沉淀，取 20μL 上清测定蛋白含量，剩余上清作为待测酶液。
2. 细菌、真菌样本：收集约 500 万个细胞，加入 1.0 mL 提取液，超声波破碎（冰浴，功率 300w，超声 3 秒，间隔 7 秒，总时间 3min）；然后 10000rpm，4℃，离心 10min，弃沉淀，取 20μL 上清测定蛋白含量，剩余上清置于冰上待测。
3. 标准液的处理：用试剂二将标准液稀释至 0.2、0.1、0.05、0.025、0.0125、0.00625、0 μmol/ml。

二、测定操作表

	对照管	测定管	标准管
酶液 (μL) 或标准液	200	200	200
试剂一 (μL)		50	
试剂二 (μL)	400	350	400
混匀，45℃ 水浴 20min			
试剂三 (μL)	400	400	400
混匀，静置 5min，1mL 玻璃比色皿，蒸馏水调零，测定 A ₄₀₅ 。△A=A 测-A 对照			

β-木糖苷酶活性计算公式

根据标准管的吸光度 (x) 和浓度 (y, μmol/ml) 建立标准曲线, 将ΔA带入标准曲线中, 计算样品生成的产物量 (μmol/ml)。

1、按蛋白含量计算

酶活定义: 45°C, pH7.4 时, 每毫克蛋白质 1min 内催化产生 1μmol 对硝基苯酚的酶量为一个酶活单位。

β-木糖苷酶活性 (μmol/min / mg prot) = $(y \times V_{\text{反总}}) \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 0.25 \times y \div C_{\text{pr}}$

2、按样本质量计算:

酶活定义: 45°C, pH7.4 时, 每克样品 1min 内催化产生 1μmol 对硝基苯酚的酶量为一个酶活单位。

β-木糖苷酶活性 (μmol/min / g) = $(y \times V_{\text{反总}}) \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.25 \times y \div W$

3. 按细胞数量计算:

酶活定义: 45°C, pH7.4 时, 每 10⁴ 个细胞 1min 内催化产生 1μmol 对硝基苯酚的酶量为一个酶活单位。

β-木糖苷酶活性 (μmol/min / 10⁴cell) = $(y \times V_{\text{反总}}) \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.0005 \times y$

Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; V 反总: 反应体系总体积, 1mL; V 样: 加入反应体系中样本体积, 0.2mL; V 样总: 加入提取液体积, 1mL; W: 样本质量, g; 500: 细胞或细菌总数, 500 万; T: 反应时间, 20min。

注意事项:

- 1、吸光度变化应该控制在 0.05-0.6 之间。否则加大样品量或稀释样品, 注意计算公式中参与计算的稀释倍数要相应改变。
- 2、样品蛋白质含量需要另外测定, 可选用考马斯亮蓝法蛋白含量测定试剂盒进行测定。