

## β-木糖苷酶 (β-xylosidase) 测定试剂盒说明书

微量法

货号：BC2625

规格：100T/48S

### 产品内容：

提取液：液体 100mL×1 瓶，4℃ 保存。

试剂一：液体 1mL×1 瓶，4℃ 避光保存。

试剂二：液体 15mL×1 瓶，4℃ 保存。

试剂三：液体 15mL×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/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板和蒸馏水。

### 操作步骤：

#### 一、粗酶液提取：

1. 植物样本：称取约 0.1g 样品，加 1mL 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 1mL 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、0μmol/ml。

#### 二、测定操作表：

- 1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 405nm，对照管调零。

#### 2、操作表

	对照管	测定管	标准管
酶液 (μL)	40	40	40
试剂一 (μL)		10	
试剂二 (μL)	80	70	80
混匀，45℃ 水浴 20min			
试剂三 (μL)	80	80	80
混匀，静置 5min，对照管调零，微量石英比色皿/96 孔板，测定 405nm 吸光值，记为 A <sub>405</sub> 。			

### 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 ( $\mu\text{mol/ml}$ )。

1、按蛋白含量计算

酶活定义：45℃，pH7.4 时，每毫克蛋白质 1min 内催化产生 1  $\mu\text{mol}$  对硝基苯酚的酶量为一个酶活单位。

$$\beta\text{-木糖苷酶活性 } (\mu\text{mol/min / mg prot}) = (y \times V_{\text{反总}}) \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 0.25 \times y \div \text{Cpr}$$

2、按样本质量计算：

酶活定义：45℃，pH7.4 时，每克样品 1min 内催化产生 1  $\mu\text{mol}$  对硝基苯酚的酶量为一个酶活单位。

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

3. 按细胞数量计算：

酶活定义：45℃，pH7.4 时，每  $10^4$  个细胞 1min 内催化产生 1  $\mu\text{mol}$  对硝基苯酚的酶量为一个酶活单位。

$$\beta\text{-木糖苷酶活性 } (\mu\text{mol/min / } 10^4 \text{ cell}) = (y \times V_{\text{反总}}) \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.0005 \times y$$

Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; V 反总: 反应体系总体积, 0.2mL; V 样: 加入反应体系中样本体积, 0.04mL; 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。