

β-木糖苷酶 (β-xylosidase) 测定试剂盒说明书

微量法 100 管/48 样

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

测定意义：

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。

测定原理：

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。

组成：

产品名称	GMS060-100T/48S	Storage
提取液：液体	100ml	4°C
试剂一：液体	1ml	4°C避光
试剂二：液体	10ml	4°C
试剂三：液体	10ml	4°C
说明书	一份	

自备仪器和用品：

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。

粗酶液提取：

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 10000g，4°C，离心 20min，取上清待测。
2. 细菌、真菌：按照细胞数量 (10⁴ 个)：提取液体积 (ml) 为 500~1000: 1 的比例（建议 500 万细胞加入 1ml 提取液），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 10000g，4°C，离心 10min，取上清置于冰上待测。
3. 液体：直接检测。

测定操作表：

- 1、分光光度计/酶标仪预热 30min，调节波长至 405nm。

最终解释权所有 © 伊势久（江苏连云港）生物科技有限责任公司，保留一切权利



2、操作表

	对照管	测定管
酶液 (μl)	40	40
试剂一 (μl)		10
试剂二 (μl)	80	70
混匀, 45°C水浴 20min		
试剂三 (μl)	80	80
混匀, 静置 5min, 405nm 处测定吸光值 A, 计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。每个测定管设一个对照管。		

β-木糖苷酶活性计算公式:

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

标准曲线: $y = 13.226x + 0.0011$, $R^2 = 0.9998$; x 为标准品浓度 (μmol/ml), y 为吸光值 ΔA 。

1、按蛋白浓度计算

酶活定义: 45°C, pH7.4 时每毫克蛋白 1min 内催化产生 1 nmol 对硝基苯酚为一个酶活单位。

$$\beta\text{-木糖苷酶活性 (nmol/min/mg prot)} = (\Delta A - 0.0011) \div 13.226 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T \times 1000$$

$$= 11.34 \times (\Delta A - 0.0011) \div C_{\text{pr}}$$

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 1 nmol 对硝基苯酚为一个酶活单位。

$$\beta\text{-木糖苷酶活性 (nmol/min/g 鲜重)} = (\Delta A - 0.0011) \div 13.226 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T \times 1000 =$$

$$11.34 \times (\Delta A - 0.0011) \div W$$

3. 按细胞数量计算:

酶活定义: 45°C, pH7.4 时每 10^4 个细胞 1min 内催化产生 1 nmol 对硝基苯酚为一个酶活单位。

$$\beta\text{-木糖苷酶活性 (nmol/min}/10^4\text{cell)} = (\Delta A - 0.0011) \div 13.226 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \times V_{\text{样总}} \div \text{细胞数量 (万个)} \div T \times 1000 =$$

$$11.34 \times (\Delta A - 0.0011) \div \text{细胞数量 (万个)}$$

(4) 按液体体积计算

酶活定义: 45°C, pH7.4 时每毫升液体 1min 内催化产生 1 nmol 对硝基苯酚为一个酶活单位。

$$\beta\text{-木糖苷酶活性 (nmol/min/ml)} = (\Delta A - 0.0011) \div 13.226 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T \times 1000$$

$$= 11.34 \times (\Delta A - 0.0011)$$

V 样总: 加入提取液体积, 1ml; V 反总: 反应总体积, 0.12ml; V 样: 反应中样品体积, 0.04ml; Cpr:

样本蛋白浓度, mg/ml; W: 样品质量, g; T: 反应时间, 20min; 1000:1μmol/L=1000nmol/L

b.用 96 孔板测定的计算公式如下

标准曲线: $y = 6.613x + 0.0011$, $R^2 = 0.9998$; x 为标准品浓度 (μmol/ml), y 为吸光值 ΔA

1、按蛋白浓度计算

酶活定义: 45°C, pH7.4 时每毫克蛋白 1min 内催化产生 1 nmol 对硝基苯酚为一个酶活单位。

$$\beta\text{-木糖苷酶活性 (nmol/min/mg prot)} = (\Delta A - 0.0011) \div 6.613 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T \times 1000$$

$$= 22.68 \times (\Delta A - 0.0011) \div C_{\text{pr}}$$

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 1 nmol 对硝基苯酚为一个酶活单位。



β -木糖苷酶活性 (nmol/min/g 鲜重) $=(\Delta A-0.0011) \div 6.613 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T \times 1000 = 22.68 \times (\Delta A-0.0011) \div W$

3. 按细胞数量计算：

酶活定义：45°C, pH7.4 时每 10^4 个细胞 1min 内催化产生 1 nmol 对硝基苯酚为一个酶活单位。

β -木糖苷酶活性 (nmol/min/ 10^4 cell) $=(\Delta A-0.0011) \div 6.613 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \times V_{\text{样总}} \div \text{细胞数量 (万个)} \div T \times 1000 = 22.68 \times (\Delta A-0.0011) \div \text{细胞数量 (万个)}$

(4) 按液体体积计算

酶活定义：45°C, pH7.4 时每毫升液体 1min 内催化产生 1 nmol 对硝基苯酚为一个酶活单位。

β -木糖苷酶活性 (nmol/min/ml) $=(\Delta A-0.0011) \div 6.613 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T \times 1000 = 22.68 \times (\Delta A-0.0011)$

V 样总：加入提取液体积，1ml； V 反总：反应总体积，0.12ml； V 样：反应中样品体积，0.04ml； Cpr：

样本蛋白浓度，mg/ml； W：样品质量，g； T：反应时间，20min； 1000:1 μ mol/ml=1000nmol/ml

ΔA 控制在 0.01-1 范围内，若 ΔA 大于 1，可适当减小样本量。

标准曲线线性范围为：0.01 μ mol/ml-0.5 μ mol/ml。

