

β-木糖苷酶 (β- xylosidase) 测定试剂盒说明书

分光光度法 50 管/24 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	GMS061-50T/24S	Storage
提取液：液体	50ml	4°C
试剂一：液体	2ml	4°C避光
试剂二：粉剂	20ml	4°C
试剂三：原液	20ml	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、1 ml 玻璃比色皿和蒸馏水。

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：

	对照管	测定管
--	-----	-----

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



酶液 (μl)	200	200
试剂一 (μl)		50
试剂二 (μl)	400	350
混匀, 45°C水浴 20min		
试剂三 (μl)	400	400
混匀, 静置 5min, 蒸馏水调零, 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:

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。

$$\begin{aligned} \beta\text{-木糖苷酶活性 (nmol/min/mg prot)} &= (\Delta A - 0.0011) \div 13.226 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T \times 1000 \\ &= 11.34 \times (\Delta A - 0.0011) \div C_{\text{pr}} \end{aligned}$$

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。

$$\begin{aligned} \beta\text{-木糖苷酶活性 (nmol/min/g 鲜重)} &= (\Delta A - 0.0011) \div 13.226 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T \times 1000 = \\ &= 11.34 \times (\Delta A - 0.0011) \div W \end{aligned}$$

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。

$$\begin{aligned} \beta\text{-木糖苷酶活性 (nmol/min}/10^4\text{cell)} &= (\Delta A - 0.0011) \div 13.226 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \times V_{\text{样总}} \div \text{细胞数量 (万个)} \\ &\div T \times 1000 = 11.34 \times (\Delta A - 0.0011) \div \text{细胞数量 (万个)} \end{aligned}$$

(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。

$$\begin{aligned} \beta\text{-木糖苷酶活性 (nmol/min/ml)} &= (\Delta A - 0.0011) \div 13.226 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T \times 1000 \\ &= 11.34 \times (\Delta A - 0.0011) \end{aligned}$$

V 样总: 加入提取液体积, 1ml; V 反总: 反应总体积, 0.6ml; V 样: 反应中样品体积, 0.2ml; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/ml; W: 样品质量, g; T: 反应时间, 20min; 1000: 1μmol/ml=1000nmol/ml

ΔA 控制在 0.01-2 范围内, 若 ΔA 大于 2, 可适当减小样本量。

标准曲线线性范围为: 0.01μmol/ml-0.5μmol/ml。

