

β -木糖苷酶活性检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1028

产品规格：100管/48样

产品内容：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体100mL×1瓶	4℃
试剂一	粉剂×1支	-20℃
试剂二	液体15mL×1瓶	4℃
试剂三	液体15mL×1瓶	4℃
标准品	液体1mL×1瓶	4℃

溶液的配制：

1. 试剂一：临用前加入1mL蒸馏水。
2. 标准品：5 μ mol/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。

注意：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。

需自备的仪器和用品：

天平、低温离心机、可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵/匀浆器、水浴锅、蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

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20 μ L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20 μ L上清测定蛋白含量，剩余上清置于冰上待测。

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. 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 μ mol/mL。
3. 样本测定：

试剂名称（ μ L）	对照管	测定管	空白管	标准管
酶液	40	40		



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

标准品				40
试剂一		10		
试剂二 (μL)	80	70	120	80
混匀, 45℃水浴20min				
试剂三 (μL)	80	80	80	80
混匀, 静置5min, 微量玻璃比色皿/96孔板, 测定405nm吸光值, 分别记为A对照、A测定、A空白、A标准。并计算ΔA测定=A测定- A对照、ΔA标准=A标准-A空白。				

三、β-木糖苷酶活性计算

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

1. 按样本蛋白含量计算:

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

$$\beta\text{-木糖苷酶活性 (U/mg prot)} = (y \times V_{\text{样}}) \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 0.05 \times y \div C_{\text{pr}}$$

2. 按样本质量计算:

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

$$\beta\text{-木糖苷酶活性 (U/g 质量)} = (y \times V_{\text{样}}) \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.05 \times y \div W$$

3. 按细胞数量计算:

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

$$\beta\text{-木糖苷酶活性 (U/10}^4\text{cell)} = (y \times V_{\text{样}}) \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.0001 \times y$$

Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; 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:

- 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。
- 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。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com