



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

β -木糖苷酶活性检测试剂盒(分光光度法)

货号: R41762

规格: 50T

产品组成及保存条件:

	规格	储存条件
提取液ES04	50mL×1瓶	2-8℃保存
R41762-A	粉剂×1支	-20℃保存
R41762-B	35mL×1瓶	2-8℃保存
R41762-C	35mL×1瓶	2-8℃保存
R41762-标准品(5 μ mol/mL)	1 mL×1支	2-8℃保存

简介

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。

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。

自备用品:

可见分光光度计、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、1ml 玻璃比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

试剂预配制:



R41762-A: 临用前加入 2 mL 蒸馏水充分溶解; 用不完的试剂建议-20℃分装保存 2 周, 避免反复冻融。

粗酶液提取:

1. 细菌或真菌样本: 先收集样本到离心管内, 离心后弃上清; 按照样本数量 (10^4 个): 提取液 ES04 体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液 ES04), 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 20%或 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 15000g 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
2. 植物样本: 按照组织质量 (g): 提取液 ES04 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 ES04), 进行冰浴匀浆。15000g 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

测定步骤:

1. 分光光度计预热30min, 调节波长至405nm, 蒸馏水调零。
2. 标准液的稀释: 用 R41762-B 将标准液稀释至 0.5、0.25、0.125、0.0625、0.03125 $\mu\text{mol/mL}$, 备用。
3. 样本测定 (在 EP 管中依次加入下列试剂):

试剂名称	测定管(ul)	对照管(ul)	标准管(ul)	空白管(ul)
样本	200	200		
标准品			200	
R41762-A	50			
R41762-B	350	400	400	600
混匀, 45℃水浴20 min				
R41762-C	400	400	400	400
混匀, 静置5min,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 $\Delta A_{\text{测定}}=A_{\text{测定}}-A_{\text{对照}}$ 、 $\Delta A_{\text{标准}}=A_{\text{标准}}-A_{\text{空白}}$ 。标准曲线和空白管只需测1-2次。每个测定管需设一个对照管。				

β -木糖苷酶活性活性计算:



根据标准管的浓度 (y, $\mu\text{mol/mL}$) 和吸光度 ΔA 标准 (x, ΔA 标准), 建立标准曲线。根据标准曲线, 将 ΔA 测定 (x, ΔA 测定) 带入公式计算样本浓度 (y, $\mu\text{mol/mL}$)。

(1) 按蛋白浓度计算:

酶活定义: 45°C , 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。

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

(2) 按样本重量计算:

酶活定义: 45°C , 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。

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

(3) 按样本数量计算:

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

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

注: $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL; $V_{\text{样}}$: 反应中样品体积, 0.2mL; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; W: 样品质量, g; 500: 样本数量, 500 万; T: 反应时间, 20min。

注意事项:

1. 吸光度变化应该控制标曲范围内, 否则加大样品量或稀释样品, 并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。