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(微量法)

货号： R41763

规格： 100T

产品组成及保存条件：

	规格	储存条件
提取液ES04	100mL×1瓶	2-8℃保存
R41763-A	粉剂×2支	-20℃保存
R41763-B	15mL×1瓶	2-8℃保存
R41763-C	15mL×1瓶	2-8℃保存
R41763-标准品(5μmol/mL)	I mL×1支	2-8℃保存

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

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/酶标仪、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板、研钵、冰和蒸馏水。

试剂预配制：

R41763-A：临用前加入 0.5 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（1 支粉剂溶解后可做 48S，为了延长使用时间，此产品多给 1 支粉剂）。

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/酶标仪预热30min，调节波长至405nm，分光光度计用蒸馏水调零。
2. 标准液的稀释：用 R41763-B 将标准液稀释至 0.5、0.25、0.125、0.0625、0.03125 μmol/mL，备用。
3. 样本测定（在 EP 管或 96 孔板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	40	40		
标准品			40	
R41763-A		10		
R41763-B	80	70	80	120
涡旋混匀，45℃水浴20 min				
R41763-C	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△A测定=A测定-A对照、△A标准=A标准-A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，μmol/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，μmol/mL）。

（1）按蛋白浓度计算：

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

β-木糖苷酶活性 (U/mg prot) = (y×V 样)÷(V 样×Cpr)÷T=0.05×y÷Cpr

（2）按样本重量计算：

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

β-木糖苷酶活性 (U/g) = (y×V 样)÷(W×V 样÷V 样总)÷T=0.05×y ÷W

（3）按样本数量计算：

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

β-木糖苷酶活性 (U/10^4cell) = (y×V 样)÷(500×V 样÷V 样总)÷T=0.0001×y

注：V 样总：加入提取液体积，1mL；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；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。