



β-木糖苷酶活性检测试剂盒
β-Xylosidase Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



β-木糖苷酶活性检测试剂盒

β-Xylosidase Activity Assay Kit

一、产品描述

β-木糖苷酶多存在于植物、细菌和真菌等生物体内，是催化木聚糖类半纤维素降解的关键酶，能够从还原端将木二糖等低聚木糖逐一降解为木糖，在工农业残渣处理、医疗用品、纤维饲料、食品和造纸工业等领域具有广泛应用。

β-木糖苷酶能够催化对硝基苯酚-β-D-木糖苷生成对硝基苯酚，产物在 400 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征 β-木糖苷酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 30 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂一	粉剂×3 支	-20°C避光保存	使用前每支加入 1 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C可保存 2 周，避免反复冻融)
试剂二	液体 50 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂三	液体 30 mL×1 瓶	4°C保存	-
标准液	液体 1 mL×1 支	4°C避光保存	10 μmol/mL 对硝基苯酚标准液
标准稀释液的制备：将 10 μmol/mL 对硝基苯酚标准液使用试剂二稀释至 0.3、0.2、0.1、0.05、0.025、0.0125 μmol/mL 即为标准稀释液。			

序号	A	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度 (μmol/mL)	10	1.0	1.0	1.0	0.1	0.05	0.025
标准液体积 (μL)	100	300	200	100	500	500	500
试剂二体积 (μL)	900	700	800	900	500	500	500
稀释后浓度 (μmol/mL)	1.0	0.3	0.2	0.1	0.05	0.025	0.0125

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿（光径 10 mm）、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1.粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

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 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，4℃ 12000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按细菌或细胞数量（ 10^4 个）：提取液体积（mL）为（500-1000）：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 3 min），4℃ 12000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③液体样本：直接检测或适当稀释后再进行检测。

2.测定步骤

①分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 400 nm，蒸馏水调零。

②在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μ L)	对照管 (μ L)	标准管 (μ L)	空白管 (μ L)
粗酶液	200	200	-	-
标准稀释液	-	-	200	-
试剂一	50	-	-	-
试剂二	350	400	400	600
充分混匀，45℃准确反应 20 min				
试剂三	400	400	400	400
充分混匀，室温显色 5 min				

吸光值测定：将反应液置于 1 mL 玻璃比色皿中，测定 400 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白；计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。注：空白管只需测定 1-2 次，每个样品均需设一个对照管。

标准曲线的建立：以 0.3、0.2、0.1、0.05、0.025、0.0125 $\mu\text{mol/mL}$ 为横坐标（x），以其对应的 $\Delta A_{\text{标准}}$ 为纵坐标（y）绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入公式中得到 x ($\mu\text{mol/mL}$)。

3.β-木糖苷酶（β-Xylosidase）活性计算

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟生成 1 μmol 对硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\beta\text{-Xylosidase (U/mg prot)} = \frac{x \times V_{\text{样总}}}{C_{\text{pr}} \times V_{\text{样总}} \times T} = \frac{0.05 \times x}{C_{\text{pr}}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织样本每分钟生成 1 μmol 对硝基苯酚定义为一个酶活单位。

$$\beta\text{-Xylosidase (U/g)} = \frac{x \times V_{\text{样总}}}{W \times T} = \frac{0.05 \times x}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10⁴ 个细菌或细胞每分钟生成 1 μmol 对硝基苯酚定义为一个酶活单位。

$$\beta\text{-Xylosidase (U/10}^4\text{ cell)} = \frac{x \times V_{\text{样总}}}{\text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{0.05 \times x}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟生成 1 μmol 对硝基苯酚定义为一个酶活单位。

$$\beta\text{-Xylosidase (U/mL)} = \frac{x \times V_{\text{样}} \times D}{V_{\text{样}} \times T} = 0.05 \times x \times D$$

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.2 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细胞或细菌数量：以万计；T：反应时间，20 min；D：液体样本稀释倍数。

四、注意事项

①试剂一配制后有效期较短，为便于试验安排，附赠一支作为备用，每支均可满足至少 20 个样本的测定；

②若测定吸光值超出标准吸光值线性范围：高于最高值建议将粗酶液适当稀释后再进行测定，低于最低值建议适当增加样本量或延长酶促反应时间后再进行测定，计算时相应修改；

③为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

