

## β-木糖苷酶检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1192

保存：4℃避光保存 12 个月

规格：48T/96T

适用样本：植物组织、细菌、真菌、培养液等液体样本

### 产品简介

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。本试剂盒提供了一种简单易用的比色法，用于分析各种生物样品中β-木糖苷酶的活性。其原理是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 400nm 处有特征吸收峰，测定 400nm 光吸收增加速率，可计算β-木糖苷酶活性。

### 产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃保存
试剂一	0.5mL	1mL	4℃避光保存
试剂二	5mL	10mL	4℃保存
试剂三	5mL	10mL	4℃保存
标准品	1mL	1mL	4℃保存

### 自备耗材

酶标仪或可见光分光光度计（能测 400nm 处的吸光度）及恒温箱

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

离心机、制冰机

去离子水

匀浆器（如果是组织样本）

### 试剂准备

提取液：即用型；4℃保存。

试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

试剂二：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂三：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

标准品：标准品为 5mM (μmol/mL) 的对硝基苯酚溶液，使用前，平衡到室温；4℃保存。

标准曲线设置：按下表所示，用去离子水将 5 μmol/mL 标准品稀释为 1、0.5、0.25、0.125、0.0625、0.0313、0.0156 μmol/mL 标准溶液 的标准溶液。

	标准品体积 (μL)	去离子水体积 (μL)	标准品浓度 (μmol/mL)
标准品 1	40μL of 5 μmol/mL	160	1
标准品 2	100μL of 标准品 1 (1 μmol/mL)	100	0.5
标准品 3	100μL of 标准品 2 (0.5 μmol/mL)	100	0.25

## 产品说明书

标准品 4	100 $\mu$ L of 标准品 3 (0.25 $\mu$ mol/mL)	100	0.125
标准品 5	100 $\mu$ L of 标准品 4 (0.125 $\mu$ mol/mL)	100	0.0625
标准品 6	100 $\mu$ L of 标准品 5 (0.0625 $\mu$ mol/mL)	100	0.0313
标准品 7	100 $\mu$ L of 标准品 6 (0.0313 $\mu$ mol/mL)	100	0.0156

**注意：每次实验，请使用新配制的标准品。**

### 样本制备

植物组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液冰浴匀浆，10,000g，4℃离心 20min，取上清液置冰上待测。  
细菌或真菌：收集 500 万细菌或真菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞，离心后弃上清，加入 1mL 提取液，冰浴超声波破碎细菌或真菌 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），10,000g，4℃离心 10min，取上清液置冰上待测。

液体样本：直接测定，根据预实验确定稀释倍数。

**注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用 BCA 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。**

### 实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 400nm，可见分光光度计去离子水调零。
2. 样本测定：在 96 孔板或微量玻璃比色皿中依次加入下列试剂

	标准 ( $\mu$ L)	空白 ( $\mu$ L)	测定 ( $\mu$ L)	对照 ( $\mu$ L)
标准品	40	0	0	0
去离子水	0	40	0	0
样本	0	0	40	40
试剂一	10	10	10	0
试剂二	70	70	70	80
混匀，45℃保温 20min				
试剂三	80	80	80	80

充分混匀，室温静置 5min 后，400nm 处测定吸光值 A，计算  $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。每个测定管需设一个对照，空白和标准曲线只需要测一次。

**注意：1. 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  $\Delta A_{\text{测}}$  小于 0.005 可适当加大样本量。如果  $A_{\text{测}}$  大于 2.0，样本可用去离子水进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数。**

### 结果计算

1. 标准曲线的绘制：

以标准品浓度为 y 轴， $\Delta A_{\text{标准}}$  为 x 轴，绘制标准曲线（浓度为 y 轴更方便计算结果）。将  $\Delta A_{\text{测定}}$  带入方程计算出 y 值 ( $\mu$ mol/mL)。

2. 样本  $\beta$ -木糖苷酶活性计算

- (1) 按样本质量计算

单位的定义：45℃时每 g 组织在反应体系中 1min 内催化产生 1  $\mu$ mol 对硝基苯酚为一个酶活单位 U。

$$\beta\text{-木糖苷酶活性(U/g 质量)} = (y \times V_{\text{反应}}) \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.15 \times y \div W$$

- (2) 按液体样本体积计算

单位的定义：45℃时每 mL 液体样本在反应体系中 1min 内催化产生 1  $\mu$ mol 对硝基苯酚为一个酶活单位 U。

$$\beta\text{-木糖苷酶活性(U/mL)} = (y \times V_{\text{反应}}) \div V_{\text{样}} \div T = 0.15 \times y$$

- (3) 按细菌或真菌细胞数量计算

单位的定义：45℃时每 1 万个细菌或真菌在反应体系中 1min 内催化产生 1  $\mu$ mol 对硝基苯酚为一个酶活单位 U。

$$\beta\text{-木糖苷酶活性(U/10}^4\text{ cell)} = (y \times V_{\text{反应}}) \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.0003 \times y$$

- (4) 按蛋白浓度计算

单位的定义：45℃时每 mg 组织蛋白在反应体系中 1min 内催化产生 1  $\mu$ mol 对硝基苯酚为一个酶活单位 U。

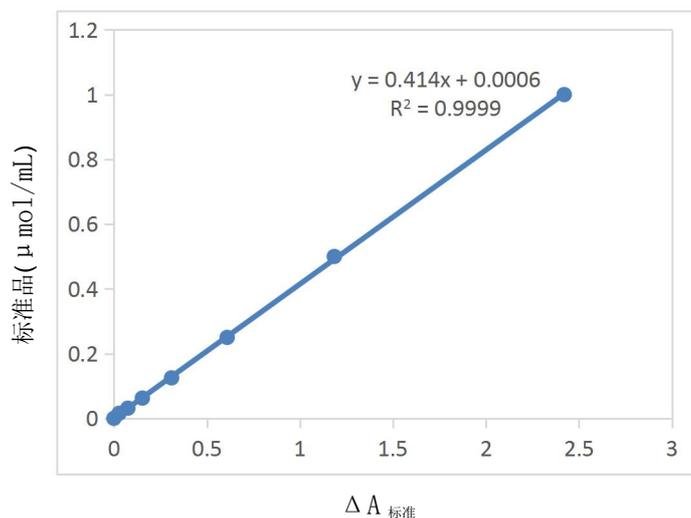
## 产品说明书

$\beta$ -木糖苷酶活性 (U/mg prot) =  $(y \times V_{\text{反应}}) \div (Cpr \times V_{\text{样}}) \div T = 0.15 \times y \div Cpr$

$V_{\text{反应}}$ : 反应体系总体积, 0.12mL;  $V_{\text{样}}$ : 加入样本体积, 0.04mL;  $V_{\text{样总}}$ : 加入提取液体积, 1mL; T: 反应时间, 20min; W: 样本质量, g; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; 500: 细胞或细菌总数, 500万。

### 结果展示

#### 典型标准曲线



### 注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

### 相关产品：

- PMK1183  $\beta$ -1,3 葡聚糖酶 ( $\beta$ -1,3-GA) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1184  $\alpha$ -葡萄糖苷酶 ( $\alpha$ -GC) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1185  $\beta$ -葡萄糖苷酶 ( $\beta$ -GC) / 纤维二糖水解酶检测试剂盒 (微量法)
- PMK1186  $\alpha$ -半乳糖苷酶 ( $\alpha$ -GAL) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1187  $\beta$ -半乳糖苷酶 ( $\beta$ -GAL) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1201 N-乙酰- $\beta$ -D-葡萄糖苷酶 (NAG) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1202  $\alpha$ -L-阿拉伯呋喃糖苷酶 ( $\alpha$ -L-Af) 检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解，请关注公众号：

