α-木糖苷酶（α- xylosidase）测定试剂盒说明书

（货号：G0713W 微板法 48 样）

一、产品简介：

α-木糖苷酶(EC 3.2.1.177)是一类木聚糖降解水解酶，存在于植物、细菌和真菌等生物体，促使非还原末端α-D-木糖残基的水解，释放出α-D-木糖。

α-木糖苷酶催化对硝基苯酚-α-D-木糖苷产生对硝基苯酚（PNP），该产物在 405nm 处有特征吸收峰，通过测定 405nm 光吸收增加速率，即可计算α-木糖苷酶活性。

二、试剂盒的组成和配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 60mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉剂 mg×1 支	4℃保存	用前甩几下使试剂落入底部，再加 1.4mL 蒸馏水溶解备用。
试剂二	液体 5 mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	液 20 mL×1 瓶	4℃保存	
标准品	粉剂×1 支	4℃保存	若重新做标曲，则用到该试剂

三、所需的仪器和用品：

酶标仪、96 孔板、可调式移液器、低温离心机、天平、研钵、冰和蒸馏水。

四、α-木糖苷酶活性测定：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本的制备：

① 组织样本：取约 0.1g 组织（水分充足的样本可取 0.5g），加入 1mL 提取液，进行冰浴匀浆。12000rpm，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】若增加样本量，可按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 比例提取。

② 细菌或细胞：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取约 500 万细菌或细胞，加入 1mL 提取液，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）；12000rpm，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】若增加样本量，可按照细菌或细胞数量（10^4个）：提取液体积（mL）为 500~1000：1 的比例提取。

③ 液体样本：直接检测。若浑浊，离心后取上清检测。

2、上机检测：

① 酶标仪预热 30min，调节波长至 405nm。

② 在 EP 管中依次加入：

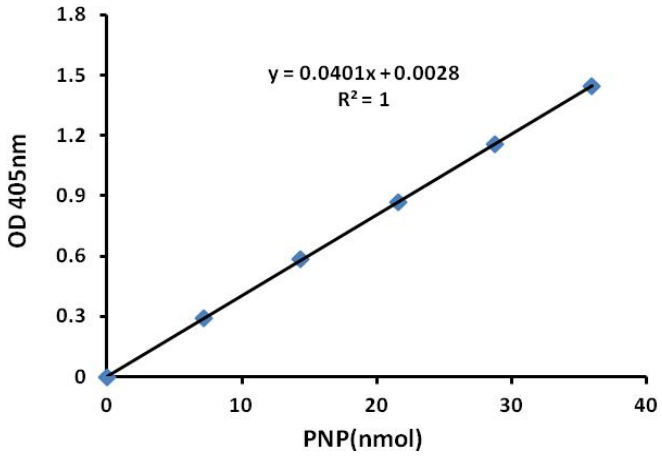
试剂名称（μL）	测定管	对照管
样本	10	10
试剂一	25	
蒸馏水		25
试剂二	45	45
迅速混匀，40℃保温 20min		
试剂三	180	180
混匀， 取 200μL 转移到 96 孔板中，405nm 处测定吸光值 A，ΔA=A 测定-A 对照（每个测定管需设一个对照管）。		

【注】：若ΔA 过小，可以延长保温时间（如：40min 或更长），或增加样本取

样量，则反应时间 T 和样本质量 W 需代入计算公式重新计算。

五、结果计算：

1、标准曲线方程：y = 0.0401x+0.0028；x 为标准品摩尔质量（nmol），y 为ΔA。



2、按蛋白浓度计算

酶活定义：40℃下，每毫克蛋白每分钟催化产生 1 nmol 对硝基苯酚（PNP）为一个酶活单位。

α-木糖苷酶活性（nmol/min/mg prot）=(ΔA-0.0028) ÷0.0401÷（V1×Cpr）÷T

= 124.7×(ΔA-0.0028)÷ Cpr

3、按样本质量计算：

酶活定义：40℃下，每克组织每分钟催化产生 1 nmol 对硝基苯酚（PNP）为一个酶活单位。

α-木糖苷酶活性（nmol/min/g 鲜重）=(ΔA-0.0028) ÷0.0401÷（V1÷V×W）÷T

=124.7×(ΔA-0.0028)÷W

4、 按细胞数量计算：

酶活定义：40℃下，每 10^4 个细胞每分钟催化产生 1 nmol 对硝基苯酚（PNP）为一酶活单位。

α-木糖苷酶活性（nmol/min/10^4cell）=(ΔA-0.0028) ÷0.0401÷（V1÷V×细胞数量）÷T

=124.7×(ΔA-0.0028)÷细胞数量

5、按液体体积计算

酶活定义：40℃下，每毫升液体每分钟催化产生 1 nmol 对硝基苯酚（PNP）为一个酶活单位。

α-木糖苷酶活性（nmol/min/mL）=(ΔA-0.0028) ÷0.0401÷V1÷T

=124.7×(ΔA-0.0028)

V----加入提取液体积，1mL； V1----加入反应体系中样本体积，10μL=0.01mL；

W----样本质量，g； 500----细胞或细菌总数，500 万；

T----反应时间，20min； PNP 对分子质量----139.11。

Cpr----样本蛋白质浓度，mg/mL，建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒；

附：标准曲线制作过程：

1 制备标准品母液（1mg/mL）：向标准品 EP 管里面加入 1ml 蒸馏水。

2 把母液稀释成以下浓度梯度的标准品：0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 mg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。

3 在 EP 管加入：10μL 标准品+25μL 蒸馏水+45μL 试剂二+180μL 试剂三，混匀，取 200μL 至 96 孔板中，于 405nm 下读取吸光值。

4 根据结果制作标准曲线。