

Soil- $\alpha$ -xylosidase Activity Assay Kit土壤 $\alpha$ -木糖苷酶测定试剂盒说明书

货号: G0333W | 方法: 微板法 | 规格: 48 样

## 一、产品简介:

$\alpha$ -木糖苷酶(EC 3.2.1.177)是一类木聚糖降解水解酶, 存在于微生物等生物体, 促使非还原末端 $\alpha$ -D-木糖残基的水解, 释放出 $\alpha$ -D-木糖。

土壤中 $\alpha$ -木糖苷酶催化对硝基苯酚- $\alpha$ -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, 即可计算土壤 $\alpha$ -木糖苷酶活性。

## 二、试剂盒组成和配制:

| 试剂名称 | 规格                   | 保存要求             | 备注                             |
|------|----------------------|------------------|--------------------------------|
| 试剂一  | 粉剂 mg $\times$ 3 支   | 4 $^{\circ}$ C保存 | 使用前甩几下使试剂落入底部, 再加 3mL 蒸馏水溶解备用。 |
| 试剂二  | 液体 35mL $\times$ 1 瓶 | 4 $^{\circ}$ C保存 |                                |
| 试剂三  | 液 40mL $\times$ 1 瓶  | 4 $^{\circ}$ C保存 |                                |
| 标准品  | 粉剂 $\times$ 1 支      | 4 $^{\circ}$ C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、天平、低温离心机、蒸馏水。

四、土壤 $\alpha$ -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:

取新鲜土样风干或者 37 $^{\circ}$ C烘箱风干, 先粗研磨, 过 40 目筛网备用。

【注】: 土壤风干, 减少土壤中水分对于实验的干扰; 土壤过筛, 保证取样的均匀细腻;

## 2、上机检测:

① 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 405nm。

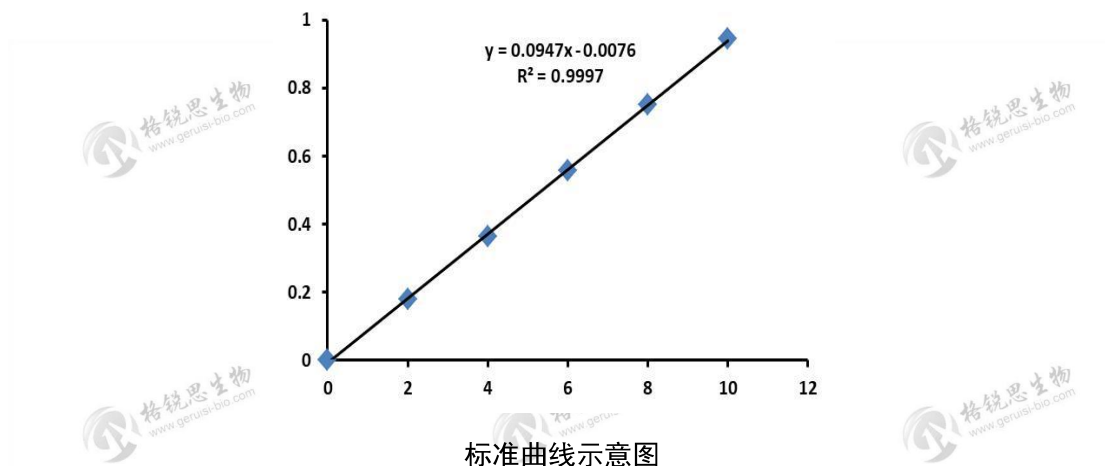
② 在 EP 管中依次加入:

| 试剂名称                                                                                                                          | 测定管 | 对照管 |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 风干土样 (g)                                                                                                                      | 0.1 | 0.1 |
| 试剂一 ( $\mu$ L)                                                                                                                | 150 |     |
| 蒸馏水                                                                                                                           |     | 150 |
| 试剂二 ( $\mu$ L)                                                                                                                | 300 | 300 |
| 混匀, 40 $^{\circ}$ C振荡反应 2h                                                                                                    |     |     |
| 试剂三 ( $\mu$ L)                                                                                                                | 350 | 350 |
| 混匀, 12000rpm, 离心 10min, 取上清液 200 $\mu$ L 于 96 孔板中, 405nm 下读取吸光值 A, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ (每个样本需做一个自身对照)。 |     |     |

注意: 本操作流程适用于绝大多数常规样本检测, 实验条件可根据实际样本状态适度微调; 针对特殊类型样本, 我司技术支持可提供专属优化建议。

## 五、结果计算：

1、标准曲线： $y = 0.0947x - 0.0076$ ；x 为标准品质量（ $\mu\text{g}$ ），y 为吸光值  $\Delta A$ 。



说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

2、单位定义：每小时每克土样中产生 1nmol 对-硝基苯酚（PNP）定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{土壤}\alpha\text{-木糖苷酶}(\text{nmol/h/g 土样}) &= (\Delta A + 0.0076) \div 0.0947 \div \text{Mr} \times 10^3 \div W \div T \times D \\ &= 37.95 \times (\Delta A + 0.0076) \div W \times D \end{aligned}$$

T---反应时间，2h；

W---实际称取土壤质量，g；

PNP 相对分子质量---139.11；

D---稀释倍数，未稀释即为 1。