

α -Xylosidase Activity Assay Kit

α -木糖苷酶活性测定试剂盒说明书

货号: G0713F | 方法: 可见分光法 | 规格: 24 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 30mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	粉剂 mg×1 支	4°C保存	使用前甩几下使试剂落入底部,再加 2mL 蒸馏水溶解备用。
试剂二	液体 6mL×1 瓶	4°C保存	
试剂三	液 27mL×1 瓶	4°C保存	
标准品	粉剂×1 支	4°C保存	若重新做标曲,则用到该试剂。

三、所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿(光径 1cm)、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°C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°C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 可见分光光度计预热 30min,调节波长至 405nm,蒸馏水调零。

② 在 EP 管中依次加入:

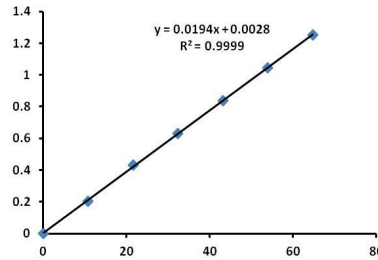
试剂名称 (μ L)	测定管	对照管
样本	30	30
试剂一	75	
蒸馏水		75
试剂二	135	135
迅速混匀, 40°C保温 20min		

试剂三	540	540
混匀，取全部澄清液体转移至 1mL 玻璃比色皿中，于 405nm 处测定吸光值 A， $\Delta A = A - A_{\text{测定-A 对照}}$ （每个测定管需设一个对照管）。		

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、标准曲线方程： $y = 0.0194x + 0.0028$ ；x 为标准品摩尔质量（nmol），y 为 ΔA 。



标准曲线示意图

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、按蛋白浓度计算：

定义：40°C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。

$$\alpha\text{-木糖苷酶活性}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mg prot}) = (\Delta A - 0.0028) \div 0.0194 \div (V1 \times Cpr) \div T$$

$$= 85.9 \times (\Delta A - 0.0028) \div Cpr$$

3、按样本质量计算：

定义：40°C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。

$$\alpha\text{-木糖苷酶活性}(\text{nmol}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = (\Delta A - 0.0028) \div 0.0194 \div (V1 \div V \times W) \div T$$

$$= 85.9 \times (\Delta A - 0.0028) \div W$$

4、按细胞数量计算：

定义：40°C下，每 10⁴ 个细胞每分钟催化产生 1 nmol 对硝基苯酚（PNP）为一酶活单位。

$$\alpha\text{-木糖苷酶活性}(\text{nmol}/\text{min}/10^4\text{cell}) = (\Delta A - 0.0028) \div 0.0194 \div (V1 \div V \times \text{细胞数量}) \div T$$

$$= 85.9 \times (\Delta A - 0.0028) \div \text{细胞数量}$$

5、按液体体积计算：

定义：40°C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。

$$\alpha\text{-木糖苷酶活性}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mL}) = (\Delta A - 0.0028) \div 0.0194 \div V1 \div T = 85.9 \times (\Delta A - 0.0028)$$

V---加入提取液体积，1mL；

V1---加入反应体系中样本体积，30 μ L=0.03mL；

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。