

## 植物β-木糖苷酶(BX)活性检测试剂盒说明书

| 产品货号      | 产品名称              | 包装规格 | 测定方法 |
|-----------|-------------------|------|------|
| PMHF2-M48 | β-木糖苷酶(BX)活性检测试剂盒 | 48T  | 微量法  |
| PMHF2-M96 |                   | 96T  |      |

### 一、测定意义：

β-木糖苷酶通过水解木聚糖等半纤维素成分，参与植物细胞壁的动态代谢，调控细胞伸长、组织分化及器官发育。其活性变化与植物抗逆性密切相关，同时参与次生代谢产物合成，影响植物机械支撑与防御功能。

### 二、测定原理：

以对硝基苯-β-D-木糖苷为底物，水解生成对硝基酚，产物显黄色，在 400nm 有特征吸收峰。

### 三、试剂组成：

| 试剂名称                                         | 试剂装量(48T)   | 试剂装量(96T)    | 保存条件   |
|----------------------------------------------|-------------|--------------|--------|
| 提取液                                          | 液体 60mL×1 瓶 | 液体 120mL×1 瓶 | 2-8℃保存 |
| 试剂一                                          | 液体 15mL×1 瓶 | 液体 30mL×1 瓶  | 2-8℃保存 |
| 试剂二                                          | 粉剂 ×1 瓶     | 粉剂 ×1 瓶      | -20℃保存 |
| 试剂二的配制：用时每瓶粉剂加入试剂一 6mL，混匀充分溶解，-20℃分装保存 1 个月。 |             |              |        |
| 试剂三                                          | 液体 15mL×1 瓶 | 液体 30mL×1 瓶  | 2-8℃保存 |
| 标准品<br>(1mg/mL)                              | 液体 1mL×1 支  | 液体 1mL×2 支   | 2-8℃保存 |

### 四、操作步骤：

#### 样本前处理

取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液），旋涡混匀抽提 3-5 分钟或者使用组织破碎仪冰浴提取，8000g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

### 测定步骤

- 1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 400nm，蒸馏水调零。
- 2、测定前将试剂恢复至常温；
- 3、将 1mg/mL 标准品用蒸馏水依次稀释至 0、3.125、6.25、12.5、25、50、100μg/mL，备用；
- 4、操作表（在 96 孔板中加入以下试剂）：

| 试剂名称                                                                                                                                                                                                                       | 测定管 | 对照管 | 空白管 | 标准管 |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|-----|
| 样品（μL）                                                                                                                                                                                                                     | 10  | 10  | -   | -   |
| 蒸馏水（μL）                                                                                                                                                                                                                    | -   | -   | 10  | -   |
| 标准品（μL）                                                                                                                                                                                                                    | -   | -   | -   | 10  |
| 试剂一（μL）                                                                                                                                                                                                                    | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 试剂二（μL）                                                                                                                                                                                                                    | 20  | -   | 20  | 20  |
| 混匀，37℃孵育 30min。                                                                                                                                                                                                            |     |     |     |     |
| 试剂三（μL）                                                                                                                                                                                                                    | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 试剂二（μL）                                                                                                                                                                                                                    | -   | 20  | -   | -   |
| 混匀，静置 3min，空白管调零，于波长 400nm 测定各管吸光度，分别记为 A <sub>测定</sub> ，A <sub>对照</sub> ，A <sub>标准</sub> ，A <sub>空白</sub> ，计算ΔA <sub>测定</sub> =A <sub>测定</sub> -A <sub>对照</sub> ，<br>ΔA <sub>标准</sub> =A <sub>标准</sub> -A <sub>空白</sub> 。 |     |     |     |     |

### 五、β-木糖苷酶(BX)活性计算：

- 1、标准曲线绘制：以吸光度值为横坐标，标准品浓度为纵坐标，绘制标准曲线  $y=kx+b$ ，x 为吸光度值，y 为标准品浓度（μg/mL）。根据标准曲线，将ΔA<sub>测定</sub>带入公式计算出样本浓度（y，μg/mL）；
- 2、按样本质量计算：

**单位定义：**每克组织每小时催化产生 1μg 对硝基酚的量为一个活力单位。

**计算公式：** $BX(U/g) = y \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 2 \times y \div W$

- 3、按蛋白浓度计算：

**单位定义：**每毫克蛋白每小时催化产生 1μg 对硝基酚的量为一个活

力单位。

**计算公式：** $BX(U/mg\ prot) = y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times Cpr) \div T = 2 \times y \div Cpr$

$V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.01mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1 mL；T：

反应时间，30 min=0.5h；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本

质量 0.1g。

## 六、注意事项：

- 1、比色时，溶液呈现淡黄色，在 2h 内保持稳定。
- 2、不同植物样本的 $\beta$ -木糖苷酶差异较大，根据样本活性可以适当增加或者减少称取样本重量，也可增加反应时间。
- 3、实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

## 【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

## 【售后微信】



## 【说明书核准及修改日期】

核准日期：2025 年 4 月 7 日

修改日期：2025 年 4 月 7 日