

中性木聚糖酶检测试剂盒 Neutral Xylanase Assay Kit

微量法

货号：AK249

规格：100T/48S

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
提取液 ES34	65mL×1 瓶	4℃保存；
AK249-A	10mL×1 瓶	4℃避光保存；
AK249-B	10mL×1 瓶	4℃避光保存；

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介：

意义：木聚糖酶 (Neutral xylanase, NEX) (EC 3.2.1.8) 主要由微生物产生，能催化水解木聚糖，也被称为戊聚糖酶或半纤维素酶，可分解酿造或饲料工业中的原料细胞壁以及 β-葡聚糖，降低酿造中物料的粘度，促进有效物质的释放，以及降低饲料中的非淀粉多糖，促进营养物质的吸收利用，因而广泛的应用于酿造和饲料工业中，NEX 一般分离自最适生长 pH 为 6-8 的微生物。

原理：NEX 在中性环境中催化木聚糖降解成还原性寡糖和单糖，在沸水浴条件下进一步与 3,5-二硝基水杨酸发生显色反应，在 540nm 处有特征吸收峰，反应液颜色的深浅与酶解产生的还原糖量成正比，通过测定反应液在 540nm 吸光值增加速率，可计算 NEX 活力。

自备用品：

天平、低温离心机、恒温水浴锅，可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板和蒸馏水。

粗酶液提取：

1. 发酵液：发酵液于 8000g，4℃，离心 15min，取上清，作为待测样品。
2. 酶干粉：称约 0.1mg，加缓冲液 1mL，震荡溶解待测。

测定步骤：

1. 分光光度计/酶标仪预热30min，调节波长至540nm。
2. AK249-B、AK249-C 和 AK249-D 置于 30℃水浴保温 30min。
3. 在 0.5 mL EP 管中按顺序加入下列试剂

试剂名称	对照管 (μL)	测定管 (μL)
样品	60	60
提取液 ES34	90	90
AK249-A		60
AK249- B	90	
混匀，盖紧瓶盖，50℃水浴，反应30min，立即沸水浴10min 灭活。(注意不要让盖子爆开，以免进水，改变了反应体系)		
AK249-A	60	
AK249- B		90
混匀，沸水浴显色5min，取200μL 于微量石英比色皿/96 孔板中，对照管调零，测定A ₅₄₀ 。		

中性蛋白酶活性计算公式：

- a. 使用微量石英比色皿测定的计算公式如下

标准曲线: $y = 1.6904x + 0.0058$, $R^2 = 0.9989$

1. 发酵液 NEX 活力计算

酶活定义: 50℃, pH6.0 条件下, 每毫升发酵液每分钟分解木聚糖产生 1nmol 还原糖所需的酶量为一个中性木聚糖酶的活力单位。

$$\begin{aligned} \text{NEX 活力 (nmol/min/mL)} &= (A540-0.0058) \div 1.6904 \div 150 \div T \times \text{稀释倍数} \times 1000 \\ &= 657 \times (A540-0.0058) \end{aligned}$$

2. 酶干粉 NEX 活力计算

酶活定义: 50℃, pH6.0 条件下, 每毫克酶每分钟分解木聚糖产生 1nmol 还原糖所需的酶量为一个中性木聚糖酶的活力单位。

$$\begin{aligned} \text{NEX 活力 (nmol/min/mg)} &= (A540-0.0058) \div 1.6904 \div 150 \div T \times \text{稀释倍数} \times 1000 \div W \\ &= 657 \times (A540-0.0058) \div W \end{aligned}$$

注: 150: 木糖的分子量; T: 反应时间, 30min; 稀释倍数=V 反总÷V 样=300μL÷60μL=5;
1000: 转化因子, 即 1mmol/L=1000μmol/L; W: 样本质量, mg。

b. 使用 96 孔板测定的计算公式如下

1. 发酵液 NEX 活力计算

酶活定义: 50℃, pH6.0 条件下, 每毫升发酵液每分钟分解木聚糖产生 1nmol 还原糖所需的酶量为一个中性木聚糖酶的活力单位。

$$\begin{aligned} \text{NEX 活力 (nmol/min/mL)} &= (A540-0.0058) \div 0.8452 \div 150 \div T \times \text{稀释倍数} \times 1000 \\ &= 1314 \times (A540-0.0058) \end{aligned}$$

2. 酶干粉 NEX 活力计算

酶活定义: 50℃, pH6.0 条件下, 每毫克酶每分钟分解木聚糖产生 1nmol 还原糖所需的酶量为一个中性木聚糖酶的活力单位。

$$\begin{aligned} \text{NEX 活力 (nmol/min/mg)} &= (A540-0.0058) \div 0.8452 \div 150 \div T \times \text{稀释倍数} \times 1000 \div W \\ &= 1314 \times (A540-0.0058) \div W \end{aligned}$$

注: 150: 木糖的分子量; T: 反应时间, 30min; 稀释倍数=V 反总÷V 样=300μL÷60μL=5;
1000: 转化因子, 即 1mmol/L=1000μmol/L; W: 样本质量, mg。

注意事项:

1. 吸光度变化应该控制在 0.01~0.8 之间, 否则加大样品量或稀释样品, 注意计算公式中参与计算的稀释倍数要相应改变; 也可以延长或者缩短反应时间。
2. 试剂盒 2-8℃保存, 保质期 3 个月, 建议尽快使用。