

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	70mL×1 瓶	4℃保存
AK249-A	7mL×1 瓶	4℃避光保存
AK249-B	10mL×1 瓶	4℃避光保存
AK249-标准品	粉剂×1 支	4℃保存，临用前加入 667uL 蒸馏水配成 100umol/mL 的标准品溶液，4℃保存 8 周。

※ 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、微量玻璃比色皿/96 孔板、冰和蒸馏水。

粗酶液提取：

1. 发酵液：发酵液于 8000rpm, 4℃，离心 15min，取上清，置冰上待测。
2. 酶干粉：称约 1mg，加缓冲液 1mL，震荡溶解，置冰上待测。

测定步骤：

1. 分光光度计/酶标仪预热30min，调节波长至540nm。
2. 标准溶液的稀释：临用前用蒸馏水将标准品稀释为 6、5、4、3、2、1umol/mL 的标准溶液待测。
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)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
样品	50	50		
标准品			50	
蒸馏水				50
提取液 ES34	75	75	75	75
AK249-A		50	50	50
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	50			
AK249- B	75	75	75	75

混匀，沸水浴显色 5min (缠封口膜，防止爆盖)，冰浴冷却后吸取 200uL 至 96 孔板/比色中，测量 540nm 波长下的吸光值 A 对照、A 测定、A 标准、A 空白，计算 ΔA 测定= A 测定- A 对照， ΔA 标准= A 标准- A 空白。

注：空白管和标准管只需做 1-2 次。

中性蛋白酶活性计算公式：

1. 标准曲线的建立：

以标准品浓度 (x) 为横坐标，吸光度 ΔA 标准 (y) 为纵坐标建立标准曲线 $y=kx+b$ 。根据标准曲线，将 ΔA 测定带入公式中 (y) 计算样本浓度 x (umol/mL)。

2. 发酵液 NEX 活力计算

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

$$NEX \text{ 活力 (U/mL)} = x \div TxF = x \div 30xF$$

3. 酶干粉 NEX 活力计算

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

$$NEX \text{ 活力 (U/mg)} = x \times V \text{ 样本} \div (V \text{ 样本} \times W \div V \text{ 提取}) \div TxF = x \div W \div 30xF$$

注：V 样本：加入的样本体积，0.05mL；W：酶干粉的质量，mg；T：反应时间，30min；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：组织样本质量，g；V 提取：加入提取液的体积，1mL；F：样本稀释倍数。

注意事项：

吸光度变化应该控制在 0.01~1.5 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。