

碱性木聚糖酶(BAX)活性检测试剂盒说明书

Alkaline Xylanase Assay Kit

分光光度法

货号: AK117

规格: 50T/24S

产品组成及保存条件:

| 编号 | 规格 | 储存条件 |
|----------------|----------|--------|
| AK117-提取液 ES18 | 65ml×1 瓶 | 4℃保存 |
| AK117-A | 10ml×1 瓶 | 4℃避光保存 |
| AK117-B | 15ml×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: 碱性木聚糖酶 (Alkaline Xylanase, BAX) (EC 3.2.1.8) 是在碱性条件下具有较高酶活的木聚糖酶, 其活性成分就是木聚糖酶。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, BAX 一般分离自最适生长 pH 为 9-11 的微生物。

原理: BAX 在碱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 BAX 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、1 mL 玻璃比色皿和蒸馏水。

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。

检测步骤:

1. 分光光度计预热 30min, 调节波长到 540 nm, 蒸馏水调零。
2. 在 EP 管中按顺序加入下列试剂:

| | 对照管 (ul) | 测定管 (ul) |
|--|----------|----------|
| 样品 | 200 | 200 |
| 提取液 ES18 | 300 | 300 |
| AK117-A | | 200 |
| AK117-B | 300 | |
| 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) | | |
| AK117-A | 200 | |
| AK117-B | | 300 |
| 混匀, 沸水浴显色 5min (注意不要让盖子爆开, 以免进水改变了反应体系), 1mL 玻璃比色皿, 对照管调零, 测定 A540。 | | |

计算公式：

1. 发酵液 BAX 活力计算：

酶活定义：50℃，pH9.0 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碱性木聚糖酶的活力单位。

$$\text{BAX 活力 (nmol/min /mL)} = 5 \times 1000 \times (A_{540} + 0.0293) \div 2.8432 \times 150 \times 30 = 391 \times (A_{540} + 0.0293)$$

注：150：木糖的分子量，30：反应时间，5：稀释倍数(1mL÷0.2mL=5)，1000：转化因子，即 1mmol/L=1000 umol/L

2. 酶干粉 BAX 活力计算：

酶活定义：50℃，pH9.0 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碱性木聚糖酶的活力单位。

$$\text{BAX 活力 (nmol/min /mL)} = 5 \times 1000 \times (A_{540} + 0.0293) \div 2.8432 \times 150 \times 30 \times W = 391 \times (A_{540} + 0.0293) \div W$$

注：150：木糖的分子量，30：反应时间，5：稀释倍数 (1mL÷0.2mL=5)，1000：转化因子，即 1mmol/L=1000μ mol/L；W：样品质量：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。