

使用说明书

Instruction Manual

碱性木聚糖酶(BAX)活性检测试剂盒（微量法） Alkaline Xylanase Assay Kit (Microanalysis)

产品描述

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。

检测原理

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。

产品组成

100T/48S 规格的产品组成如下:

| 组成 | 规格 | 储存条件 |
|------------|----------|---------|
| CB0001M-ES | 65mL×1 瓶 | 4°C保存 |
| CB0001M-A | 10mL×1 瓶 | 4°C避光保存 |
| CB0001M-B | 10mL×1 瓶 | 4°C避光保存 |

操作说明

1. 自备用品:

天平、低温离心机、恒温水浴锅,可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿和蒸馏水。

2. 粗酶液提取:

- 1) 发酵液: 发酵液于 8000g, 4°C, 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。

3. 检测步骤:

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

| | 对照管 (μL) | 测定管 (μL) |
|---|----------|----------|
| 样品 | 60 | 60 |
| CB0001M-ES | 90 | 90 |
| CB0001M-A | | 60 |
| CB0001M-B | 90 | |
| 混匀, 盖紧瓶盖, 50°C水浴, 反应 30min, 立即沸水浴 10min 灭活(注意不要让盖子爆开, 以免进水改变反应体系)。 | | |
| CB0001M-A | 60 | |
| CB0001M-B | | 90 |
| 混匀, 沸水浴显色 5min(注意不要让盖子爆开, 以免进水改变反应体系), 取 200μL 于微量石英比色皿/96 孔板中, 对照管调零, 测定 A540。 | | |

4. 计算公式:

1) 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

标准曲线: $y = 2.8432x - 0.0293$, $R^2 = 0.9985$

a. 发酵液 BAX 活力计算:

酶活定义: 50°C, 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。

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 (300μL ÷ 60μL = 5), 1000: 转化因子, 即 1mmol/L = 1000umol/L

b. 酶干粉 BAX 活力计算:

酶活定义: 50°C, 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。

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 (300μL ÷ 60μL = 5), 1000: 转化因子, 即 1mmol/L = 1000umol/L; W: 样品质量: mg。

2) 用 96 孔板测定的计算公式如下

标准曲线: $y = 1.4216x - 0.0293$, $R^2 = 0.9985$

a. 发酵液 BAX 活力计算

酶活定义: 50°C, 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。

BAX 活力 (nmol/min /mL) = $(A_{540} + 0.0293) \div 1.4216 \div 150 \div T \times \text{稀释倍数} \times 1000 = 782 \times (A_{540} + 0.0293)$

b. 酶干粉 BAX 活力计算

酶活定义: 50°C, 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。

BAX 活力 (nmol/min /mg) = $(A_{540} + 0.0293) \div 1.4216 \div 150 \div T \times \text{稀释倍数} \times 1000 \div W = 782 \times (A_{540} + 0.0293) \div W$

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

储存条件

试剂盒 2-8°C 保存, 保质期 3 个月, 建议尽快使用。

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. 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
3. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

