

使用说明书

Instruction Manual

碱性木聚糖酶(BAX)活性检测试剂盒（分光光度法）

Alkaline Xylanase Assay Kit (Spectrophotometry)

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。

产品组成及储存条件

50T/24S 规格的产品组成如下：

组成	规格	储存条件
CB0001S-ES	65mL×1 瓶	4℃保存。
CB0001S-A	10mL×1 瓶	4℃避光保存。
CB0001S-B	15mL×1 瓶	4℃避光保存。
CB0001S-Standard	粉剂×1 瓶	4℃保存；临用前加入 667 μ L 蒸馏水配制成 100 μ mol/mL 的木糖标准液，4℃可保存两周。

注：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

操作说明

一、自备用品：

可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿、天平、低温离心机、恒温水浴锅，蒸馏水。

二、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。
3. 组织样本：称约 0.1g 组织，加入 1mL 缓冲液，冰上充分研磨。8000rpm，4℃，离心 15min，取上清蒸馏水 稀释 10 倍待测。

三、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 (μL)	测定管 (μL)
样品	200	200
CB0001S-ES	300	300
CB0001S-A		200
CB0001S-B	300	
混匀，盖紧瓶盖，50°C水浴，反应 30min，立即沸水浴 10min 灭活(注意勿让盖子爆开，以免进水改变反应体系)。		
CB0001S-A	200	
CB0001S-B		300
混匀，沸水浴显色 5min (注意勿让盖子爆开，以免进水改变反应体系)，1mL 玻璃比色皿，对照管调零，测定 A540。		

四、计算公式：

1. 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(1mL÷0.2mL=5)，1000：转化因子，即 1mmol/L=1000 μmol/L。

2. 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 (1mL÷0.2mL=5)，1000：转化因子，即 1mmol/L=1000 μmol/L；W：样品质量：mg。

注意事项

1. 吸光度变化应该控制在 0.01-1.0 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. 蛋白定量测定,建议使用 TargetMol 生产的 BCA Protein Quantification Kit (C0050)。
3. 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。
4. 为了您的安全和健康,请穿实验服并戴一次性手套操作。

