

酸性木聚糖酶/酸性半纤维素酶检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1190

保存：4℃避光保存 12 个月

规格：48T/96T

适用样本：组织、细胞、细菌、真菌、发酵液、酶干粉

产品简介

木聚糖酶(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，酸性木聚糖酶（Acidic Xylanase, ACX）一般分离自耐酸的真菌，细菌及部分霉菌。本试剂盒可检测各种生物样本中 ACX 活性，其原理是 ACX 在酸性环境下能将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 ACX 活力。

产品内容

| 试剂盒组分 | 规格 | | 储存条件 |
|-------|--------|--------|--------|
| | 48T | 96T | |
| 缓冲液 | 50mL | 100mL | 4℃保存 |
| 试剂一 | 5mL | 10mL | 4℃避光保存 |
| 试剂二 | 5mL | 10mL | 4℃避光保存 |
| 标准品 | 粉剂×1 支 | 粉剂×1 支 | 4℃保存 |

自备耗材

酶标仪或可见分光光度计（能测 540nm 处的吸光度）以及水浴锅
96 孔板或微量玻璃比色皿，可调节式移液枪及枪头
低温离心机，制冰机
去离子水
匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

注意：小管试剂开盖前，请先低速离心。

缓冲液：即用型；4℃保存。

试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

试剂二：室温避光保存，若有黄色晶体析出，需 90℃加热溶解后再用。

标准品：含 10 mg 木糖，临用前加入 667 μL 去离子水配制成 100 μmol/mL 的木糖标准储液，2-8℃保存 8 周或-20℃长期保存。取 40μL 100 μmol/mL 的木糖标准储液加入 360μL 去离子水得 10 μmol/mL 的标准溶液。

注意：每次实验，请使用新配制的标准溶液。

样本制备

组织样本：称取约 0.1g 组织，加入 1mL 缓冲液冰浴匀浆，8,000g，4℃离心 10min，取上清液置冰上待测。
细菌或细胞：收集 5×10^6 个细菌或细胞到离心管内，用冷 PBS 清洗细菌或细胞，离心后弃上清，加入 1mL 缓冲液，冰浴超声波破碎细菌或细胞 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次）。8,000g，4℃离心 10min，取上清液置冰上待测。

产品说明书

发酵液：发酵液于 8000g，4℃离心 15min，取上清，作为待测样品。

酶干粉：称约 1mg，加 1mL 缓冲液溶解后置冰上待测。

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用 BCA 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。含还原糖较高的样本（如植物果实等）可用去离子水进行适当稀释后再进行测定。

实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 540nm，可见分光光度计去离子水调零。

2. 操作表（在 EP 管中）：

| | 对照管 (μL) | 测定管 (μL) | 标准管 (μL) | 空白管 (μL) |
|------|----------|----------|----------|----------|
| 样本 | 60 | 60 | 0 | 0 |
| 标准品 | 0 | 0 | 60 | 0 |
| 去离子水 | 0 | 0 | 0 | 60 |
| 缓冲液 | 90 | 90 | 90 | 90 |
| 试剂一 | 0 | 60 | 60 | 60 |

涡旋混匀，置于 50℃水浴锅中反应 20min，立即沸水浴中 10min 灭活。（注意不要让盖子爆开，以免进水，改变了反应体系）

| | | | | |
|-----|----|----|----|----|
| 试剂一 | 60 | 0 | 0 | 0 |
| 试剂二 | 90 | 90 | 90 | 90 |

涡旋混匀，沸水浴 5min（注意不要让盖子爆开，以免进水改变了反应体系），冷却至室温后，吸取 200 μL 于 96 孔板或微量玻璃比色皿中，尽快于 540nm 处分别读取空白管、标准管、对照管和测定管吸光值，计算 $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。

注意：空白管和标准曲线只需测定 1 次，每个测定管设一个对照管。实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 大于 1.0，需要将样本用提取液稀释，计算公式中乘以相应稀释倍数。如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 小于 0.001 可适当加大样本量。

结果计算

1. 按发酵液等液体的体积计算：

酶活定义：50℃，pH 9.0 条件下，每 mL 发酵液在反应体系中每分钟分解木聚糖产生 1 μmol 还原糖（木糖）所需的酶量为一个酶活力单位 U。

$$\text{ACX 活力 (U/mL)} = C_{\text{标}} \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 1.75 \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}})$$

2. 按样本质量计算

1) 酶干粉 ACX 活力计算

酶活定义：50℃，pH 9.0 条件下，每 mg 酶在反应体系中每分钟分解木聚糖产生 1 μmol 还原糖（木糖）所需的酶量为一个酶活力单位 U。

$$\text{ACX 活力 (U/mg 质量)} = C_{\text{标}} \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \times V_{\text{反总}} \div (W_1 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 1.75 \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \div W_1$$

2) 组织中 ACX 活力计算

酶活定义：50℃，pH 9.0 条件下，每 g 组织在反应体系中每分钟分解木聚糖产生 1 μmol 还原糖（木糖）所需的酶量为一个酶活力单位 U。

$$\text{ACX 活力 (U/g 质量)} = C_{\text{标}} \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \times V_{\text{反总}} \div (W_2 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 1.75 \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \div W_2$$

3. 按细菌或细胞数量计算：

酶活定义：50℃，pH 9.0 条件下，每 1 万个细菌或细胞在反应体系中每分钟分解木聚糖产生 1 μmol 还原糖（木糖）所需的酶量为一个酶活力单位 U。

$$\text{ACX 活力 (U/10}^4 \text{ cells)} = C_{\text{标}} \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \times V_{\text{反总}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.0035 \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}})$$

4. 按蛋白浓度计算：

$$\text{ACX 活力 (U/mg prot)} = C_{\text{标}} \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \times V_{\text{反总}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T = 1.75 \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \div C_{\text{pr}}$$

$C_{\text{标}}$ ：标准溶液浓度，10 μmol/mL； $V_{\text{反总}}$ ：反应体系总体积，0.21mL； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.06mL； $V_{\text{样总}}$ ：样本总体积，1mL； T ：反应时间，20 min； W_1 ：酶干粉样本质量，mg； W_2 ：组织样本质量，g； C_{pr} ：样本蛋白质浓度，mg/mL；500：细菌或细胞总数，500 万。

产品说明书

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

- PMK1191 碱性木聚糖酶/碱性半纤维素酶检测试剂盒（微量法）
- PMK1189 中性木聚糖酶/中性半纤维素酶检测试剂盒（微量法）
- PMK1164 葡萄糖检测试剂盒（微量法）
- PMK1197 总糖检测试剂盒（微量法）
- PMK1175 植物可溶性糖检测试剂盒（微量法）

更多产品详情了解，请关注公众号：

