

## Basic Xylanase Assay Kit

### 碱性木聚糖酶（BAX）测定试剂盒说明书

货号: BN72310 | 方法: 微板法 | 规格: 96 样

#### 一、产品简介:

木聚糖酶在自然界分布广泛,可从动物、植物和微生物中获得。可将木聚糖降解成低聚糖和木糖的一组酶的总称,也被称为戊聚糖酶或半纤维素酶,广泛应用于酿造和饲料工业中。

碱性木聚糖酶(BAX)在碱性环境中水解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 3,5-二硝基水杨中发生显色反应,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。

#### 二、试剂盒组分与配制:

| 试剂名称 | 规格           | 保存要求   | 备注                               |
|------|--------------|--------|----------------------------------|
| 提取液  | 100mL 液体×1 瓶 | 4℃保存   |                                  |
| 试剂一  | 25mL×1 瓶     | 4℃保存   |                                  |
| 试剂二  | 粉体 mg×1 瓶    | 4℃保存   | 临用前甩几下使粉体落入底部,再加 12.5mL 试剂一溶解备用。 |
| 试剂三  | 21mL×1 瓶     | -20℃保存 |                                  |
| 标准品  | 粉剂×1 支       | 4℃保存   | 若重新做标曲,则用到该试剂                    |

#### 三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、低温离心机、恒温水浴锅、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水。

#### 四、碱性木聚糖酶（BAX）活性测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定,了解本批样品情况,熟悉实验流程,避免实验样本和试剂浪费!

##### 1、样本制备:

- ① 组织样本:称取约 0.2g 组织(水分充足的样本可取 1g),加入 1mL 经预冷的 95%乙醇冰浴匀浆,4℃放置 10min; 12000rpm, 4℃离心 5min; 弃上清,留沉淀,向沉淀中加入经预冷的 80%乙醇混匀,4℃放置 10min; 12000rpm, 4℃离心 5min; 弃上清,留沉淀。再向沉淀中加入 1mL 经预冷提取液,涡旋混匀,4℃放置 10min; 12000rpm, 4℃离心 10min; 留上清,弃沉淀。上清液置冰上待测。
- ② 细菌/培养细胞:先收集细菌或细胞到离心管内,离心后弃上清;取约 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液,超声波破碎细菌或细胞(冰浴,功率 20%或 200W,超声 3s,间隔 10s,重复 30 次); 12000rpm, 4℃离心 10min,取上清,置冰上待测。

【注】:若增加样本量,可按照细菌或细胞数量( $10^4$ 个):提取液体积(mL)为 500:1 的比例进行提取。

- ③ 液体样本:澄清液体直接检测;若浑浊则 12000rpm, 4℃,离心 15min,取上清待测。

##### 2、上机检测:

- ① 酶标仪预热 30min,调节波长至 540nm。在 EP 管中依次加入:

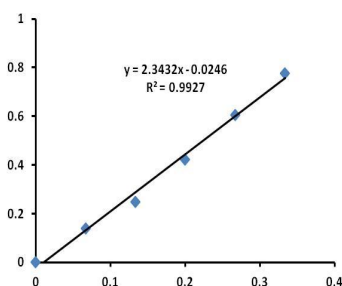
| 试剂名称(μL) | 测定管 | 对照管 |
|----------|-----|-----|
| 样本       | 50  | 50  |
| 试剂一      | 50  | 50  |
| 试剂二      | 50  |     |

| 40°C 孵育 60min                                                                                |     |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 试剂二                                                                                          |     | 50  |
| 试剂三                                                                                          | 100 | 100 |
| 混匀，沸水浴（95-100°C）5min，冷却至室温                                                                   |     |     |
| 蒸馏水                                                                                          | 100 | 100 |
| 混匀，取出200μL待检液至96孔板中，于540nm处读取吸光值A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ （每个测定管设一个对照管）。 |     |     |

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；  
针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

## 五、结果计算：

1、标准曲线方程： $y = 2.3432x - 0.0246$ ，x 是标准品摩尔质量（μmol），y 是 $\Delta A$ 。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

2、按蛋白浓度计算：

酶活定义：40°C，PH9.0 条件下，每毫克蛋白每分钟分解木聚糖产生 1nmol 木糖所需的酶量为一个碱性木聚糖酶的活力单位。

$$\text{BAX 活力}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mg prot}) = [(\Delta A + 0.0246) \div 2.3432 \times 10^3] \div (\text{Cpr} \times V1 \div V) \div T \times D$$

$$= 142.3 \times (\Delta A + 0.0246) \div \text{Cpr} \times D$$

3、按鲜重计算：

酶活定义：40°C，PH9.0 条件下，每克样本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。

$$\text{BAX 活力}(\text{nmol}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = [(\Delta A + 0.0246) \div 2.3432 \times 10^3] \div (W \times V1 \div V) \div T \times D$$

$$= 142.3 \times (\Delta A + 0.0246) \div W \times D$$

4、按细菌/细胞密度计算：

酶活定义：40°C，PH9.0 条件下，每 1 万个细菌或细胞每分钟分解木聚糖产生 1nmol 还原糖所需的酶量为一个中性木聚糖酶的活力单位。

$$\text{BAX 活力}(\text{nmol}/\text{min}/10^4 \text{ cell}) = [(\Delta A + 0.0246) \div 2.3432 \times 10^3] \div (500 \times V1 \div V) \div T \times D$$

$$= 142.3 \times (\Delta A + 0.0246) \div 500 \times D$$

5、按液体体积计算：

酶活定义：40°C，PH9.0 条件下，每毫升液体样本每分钟分解木聚糖产生 1nmol 木糖所需的酶量为一个碱性木聚糖酶的活力单位。

$$\text{BAX 活力}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mL}) = [(\Delta A + 0.0246) \div 2.3432 \times 10^3] \div V1 \div T \times D = 142.3 \times (\Delta A + 0.0246) \times D$$

V--提取液体积，1mL； V1--样本体积，0.05mL； T--反应时间，60min；

W--样本质量，g； 木糖分子量--150.131； 500--细胞数量，万； D--稀释倍数，未稀释即为 1；

Cpr--样本蛋白质浓度，mg/mL； 建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。