

木聚糖酶检测试剂盒(DNS 微板法)

产品货号: BA1841

产品规格: 100T

产品简介:

木聚糖(Xylan)是植物细胞壁的主要组成成分,它也是可利用的丰富的半纤维素。木聚糖酶(Xylanase)指能专一降解半纤维素、木聚糖为低聚木糖和木糖的一组酶的总称。木聚糖酶主要来源于细菌和真菌,包括厌氧菌、需氧菌、嗜温微生物、嗜热微生物和极端微生物等。

木聚糖酶主要包括3类:① β -1,4-D-内切木聚糖酶(EC3.2.1.8),从木聚糖主链的内部切割 β -1,4糖苷键,使木聚糖溶液的黏度迅速降低;② β -1,4-D-外切木聚糖酶(EC3.2.1.92),以单个木糖为切割单位,作用于木聚糖的非还原性末端,使反应体系还原性不断增加;③ β -1木糖苷酶(EC3.2.1.37),切割低聚木糖,水解产物主要为木糖、木二糖及木三糖等低聚木糖。

根据酶的理化特性,木聚糖酶又可分为2大类:即分子量小于30ku的碱性木聚糖酶和分子量大于30ku的酸性木聚糖酶。通常细菌可以同时产生酸、碱性木聚糖酶,但真菌通常只产生低分子量的碱性木聚糖酶。从本质上讲,木聚糖酶都具有外切酶和内切酶活性,只是活性高低不同而已。作为一种工业用酶制剂,木聚糖酶具有潜在的应用价值。首先木聚糖酶可以将农业和木材工心的废物中的木聚糖转化为木糖,其次,Wong等建议木聚糖酶可应用在果汁澄清、咖啡、植物油和淀粉提取加工过程中。

尚宝生物木聚糖酶检测试剂盒(DNS微板法)检测原理是:木聚糖酶能将木聚糖降解成还原性寡糖和单糖,在沸水浴条件下可以与3,5-二硝基水杨酸(DNS)试剂发生显色反应。反应液颜色的深度与酶解产生的还原糖量成正比,而还原糖的生成量又与反应液中木聚糖酶的活力成正比。因此,通过测定反应液颜色的强度,可以计算反应液中木聚糖酶的活力。本产品仅用于科研领域,不用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

产品名称	100T	保存条件
试剂(A): 木糖标准 (10mg/ml)	1ml	2-8°C
试剂(B): Assay buffer	2×100ml	室温
试剂(C): 木聚糖	0.5g	室温
试剂(D): NH 水溶液 (3×)	30ml	室温
试剂(E): YS 溶液	5ml	室温
试剂(F): DNS 试剂	50ml	室温,避光

自备材料:

1. 去离子水或蒸馏水
2. 电子天平(精度0.0001g)、pH计、磁力搅拌器、移液器、小烧杯
3. 振荡器、纱布、离心机、离心管或试管、三角瓶、容量瓶、
4. 水浴锅、电热炉、培养箱、酶标仪、酶标板

操作步骤(仅供参考):

1. 配制木聚糖溶液:准确称取0.15g木聚糖,使充分溶解于8ml去离子水和5mlNH水溶液(3×)中,通过pH计测定,用YS溶液调节pH至5.5~5.6,补水至15ml,木聚糖终浓度为10mg/ml,4°C避光保存,48小时有效。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

2. 配制 NH 水溶液(1×): 取 1 份 NH 水溶液(3×)和 2 份去离子水混合即成。
3. 标准曲线绘制: 取 8 支离心管按下表设置, 准确吸取木糖标准(10mg/ml)与 Assay buffer 即得不同浓度的木糖梯度标准。

加入物 (ml)	1	2	3	4	5	6	7
木糖标准 (10mg/ml)	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05	0.06	0.07
Assay buffer	0.99	0.98	0.97	0.96	0.95	0.94	0.93
木糖标准 (mg/ml)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7

取 1 支离心管, 加入 0.08ml Assay buffer 和 0.1ml DNS 试剂, 混匀, 沸水浴加热 5min, 自来水冷却至室温, 加 NH 水溶液(1×)0.32ml, 即为空白管。另取 7 支离心管, 加入 0.04ml 37°C 预热的 Assay buffer、0.04ml 木糖梯度标准和 0.1ml DNS 试剂, 混匀, 沸水浴加热 5min, 自来水冷却至室温, 加 NH 水溶液(1×)0.32ml, 即为标准管。以空白管调零, 酶标仪测定 540nm 处各管的吸光度。

4. 准备样品:

①固体样品按照下表中建议的称样量称取试样两份, 精确至 0.001 g。加入 4ml Assay buffer, 充分溶解, 并定容至 10ml, 在 4°C 条件下避光保存 1~2h。1000g 离心 3~5min 取上清液, 再用 Assay buffer 做适当稀释、定容(稀释后的酶液中木聚糖酶活力最好能控制在 0.04~0.10U/ml 之间)。

木聚糖酶活力/(U/g 或者 U/ml)	称重样品/g (或者 ml)
≥2000	0.01~0.02
500~1999	0.02~0.05
200~499	0.05~0.1
50~199	0.1~0.2
10~49	0.2~0.5

②液体样品可以直接用 Assay buffer 稀释、定容(稀释后的酶液中木聚糖酶活力最好能控制在 0.04~0.10 U/ml 之间)。如果样品稀释后酶液的 pH 偏离 5.4~5.7, 需要用乙酸溶液或氢氧化钠溶液校正至 5.4~5.7。

5. 测定样品

- ①取适量的木聚糖溶液和酶提取液置于不同的离心管中, 37°C 平衡 20min; 木聚糖溶液使用之前应充分摇匀。
- ②取 2 支离心管按下表设置依次加入相应试剂:

加入物 (ml)	对照管	测定管
酶提取液	0.04	0.04
Assay buffer	0.04	-
木聚糖溶液	-	0.04
37°C 水浴 30min		
DNS 试剂	0.1	0.1
立即摇匀, 放入沸水浴中显色 5min, 立即取出, 流水冷却至室温, 加 NH 水溶液 (1×) 0.32ml		

以空白管调零, 酶标仪测定 540nm 处对照管和测定管的吸光度(分别记为 A1、A0)。

计算:

木聚糖酶活力单位定义: 在 37°C pH5.5 的条件下, 每分钟从浓度为 5mg/ml 的木聚糖溶液中降解释放 1 μ mol 还原糖所需要的酶量为一个酶活力单位 U。根据酶活性定义, 可计算出样品中的木聚糖酶活性。

以系列木糖标准(mg/ml)(1~7 号)为横坐标, 以相应的吸光度为纵坐标, 绘制标准曲线。根据标准曲线计算出酶提取液(对照管和测定管)的吸光度相对应的木糖浓度 C, 根据下式再计算木聚糖酶活性。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

$$D1=N \times (C1-C0) \times 1000 / (1 \times M \times t) = N \times (C1-C0) \times 1000 / 4506$$

$$D2=D1 \times V0 / m$$

式中：D1—稀释酶液中木聚糖酶的活力，单位为 U/ml 或 U/g

N—样品稀释倍数

C1—样品测定管木糖浓度，单位为 mg/ml

C0—样品对照管木糖浓度，单位为 mg/ml

1000—转换因子，1mmol=1000umol

M—木糖的摩尔质量，单位为 g/mol(=150.2)

T—酶与底物的反应时间，单位为 min(=30)

D2—固体样品中木聚糖酶的活力，单位为 U/g

V0—固体样品的酶提取液总体积，单位为 ml

m—称取样品的质量，单位为 g

注意事项：

1. 木糖标准应避免反复冻融，以免失效或效率下降。
2. 木聚糖易溶于碱性溶液中，加入 YS 溶液后呈悬浊状，静置后可能分层，为减少实验误差，后续实验使用时应摇匀。
3. 待测酶提取液样品如不能及时测定，应置于-20℃保存，3 天内稳定。
4. 如果样品酶活性过高，应用 Assaybuffer 稀释酶提取液后重测，结果乘以稀释倍数。
5. 木聚糖酶的最适 pH 一般在 5.5。如果样品稀释后酶液的 pH 偏离 5.4~5.7，需要用乙酸溶液或氢氧化钠溶液校正至 5.4~5.7
6. 本试剂盒适用于饲料等样品的木聚糖酶活性的测定。
7. Assay buffer 如不够用，可用乙酸钠缓冲液(0.1mol/L,pH5.5-6.0)替代。
8. DNS 试剂、NH 水溶液(2×)和 YS 溶液有一定的腐蚀性和刺激性，应小心操作。
9. 沸水浴实验操作时，应当选择带螺旋盖的离心管。
10. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：6 个月有效。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com