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：①β-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；②β-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；③β-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℃
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 去离子和 5ml NH 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℃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℃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℃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℃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 bufffer	0.04	-
木聚糖溶液	-	0.04
37℃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 A_1、A_0)。

计算:

木聚糖酶活力单位定义：在 37℃ 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 1μmol 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。

$D_1=N\times(C_1-C_0)\times1000/(1\times M\times t)=N\times(C_1-C_0)\times1000/4506$

$D_2=D_1\times V_0/m$

式中：D_1—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

C_1—样品测定管木糖浓度，单位为 mg/ml

C_0—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)

D_2—固体样品中木聚糖酶的活力，单位为 U/g

V_0—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 Assaybuffe 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。