

中性木聚糖酶 (Neutral Xylanase, NEX) 测定试剂盒说明书

分光光度法 50 管/24 样

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

测定意义：

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，NEX 一般分离自最适生长 pH 为 6-8 的微生物。

测定原理：

NEX 在中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 NEX 活力。

组成：

产品名称	GMS059-50T/24S	Storage
缓冲液：液体	65ml	4°C
试剂一：液体	10ml	4°C避光
试剂二：液体	15ml	4°C避光
说明书	一份	

试剂一：液体 10ml \times 1 瓶，4°C避光保存。（若出现白色絮状或颗粒状沉淀，可 60°C加热溶解后使用）。

自备仪器和用品：

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

粗酶提取：

1. 发酵液：发酵液于 8000g，4°C，离心 15min，取上清，作为待测样品。
2. 酶干粉：称约 0.1mg，加 1ml 缓冲液溶解待测。
3. 组织样本：按照组织质量 (g)：提取液体积(ml)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1ml 缓冲液）进行冰浴匀浆，然后 8000g，4°C，离心 10min，取上清待测。

测定操作表：

	对照管	测定管
--	-----	-----

最终解释权所有 © 伊势久（江苏连云港）生物科技有限责任公司，保留一切权利



样品 (μl)	200	200
缓冲液 (μl)	300	300
试剂一 (μl)		200
试剂二 (μl)	300	
混匀, 盖紧瓶盖, 50°C水浴, 反应 30min, 立即沸水浴 20min 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 (μl)	200	
试剂二 (μl)		300
混匀, 沸水浴显色 5min(注意不要让盖子爆开, 以免进水改变了反应体系), 1ml 玻璃比色皿, 540nm 处测定吸光值 A, 计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。每个测定管设一个对照管。		

NEX 计算公式:

标准曲线: $y = 1.6904x + 0.0058$, $R^2 = 0.9989$

1. 按液体体积活力计算:

酶活定义: 50°C, pH6.0 条件下, 每毫升液体样本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。

$$\begin{aligned} \text{NEX 活力 (nmol/min/ml)} &= (\Delta A - 0.0058) \div 1.6904 \div 150 \div T \times \text{稀释倍数} \times 10^6 \\ &= 657 \times (\Delta A - 0.0058) \end{aligned}$$

2. 按蛋白浓度计算:

酶活定义: 50°C, pH6.0 条件下, 每毫克蛋白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。

$$\begin{aligned} \text{NEX 活力 (nmol/min/mg prot)} &= (\Delta A - 0.0058) \div 1.6904 \div 150 \div T \times \text{稀释倍数} \times 10^6 \div \text{Cpr} \\ &= 657 \times (\Delta A - 0.0058) \div \text{Cpr} \end{aligned}$$

3. 按鲜重计算:

酶活定义: 50°C, pH6.0 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中性木聚糖酶的活力单位。

$$\begin{aligned} \text{NEX 活力 (nmol/min/g 鲜重)} &= (\Delta A - 0.0058) \div 1.6904 \div 150 \div T \times \text{稀释倍数} \times 10^6 \div W \\ &= 657 \times (\Delta A - 0.0058) \div W \end{aligned}$$

150: 木糖的分子量; T: 反应时间, 30min; 稀释倍数 = $V_{\text{反应}} \div V_{\text{样}} = 1000\mu\text{L} \div 200\mu\text{L} = 5$;

10^6 : 转化因子, 即 $1\text{mg/ml} = 10^6\text{ng/ml}$; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/ml; W: 样本质量, g。

注意事项:

- 吸光度变化应该控制在 0.01~0.8 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。
- 试剂盒 2-8°C 保存, 保质期 3 个月, 建议尽快使用。

