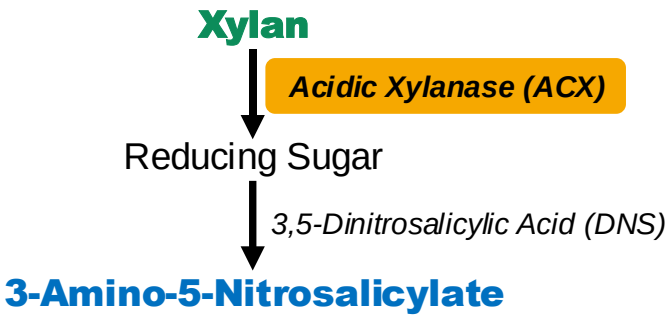
酸性木聚糖酶（ACX）活性检测试剂盒

Acidic Xylanase (ACX) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Catalog Number **AKSU048C**
Storage Temperature **2-8°C**
Size **70T/25S**

Visible Spectrophotometry

酸性木聚糖酶（ACX）活性检测试剂盒

Acidic Xylanase (ACX) Activity Assay Kit

一、产品描述

木聚糖酶又称戊聚糖酶或半纤维素酶，多存在于耐酸真菌、细菌和部分霉菌中，可催化木聚糖水解，作为细胞壁以及β-葡聚糖的分解酶，能够明显降低原料的粘度，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，在酿造和饲料等领域具有广泛应用。

酸性木聚糖酶能够在酸性环境下将木聚糖降解为还原性寡糖和单糖，进一步与3,5-二硝基水杨酸反应生成棕红色氨基化合物，产物在540 nm处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征酸性木聚糖酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 70 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂一	液体 15 mL×1 瓶	4°C避光保存	-
试剂二	液体 25 mL×1 瓶	4°C避光保存	-
试剂三	液体 8 mL×1 瓶	4°C保存	-
标准品	粉剂×1 支	4°C保存	**使用前加入 1 mL 蒸馏水充分溶解**（即为 100 μmol/mL 木糖标准液）
标准稀释液的制备（现配现用）：使用前将 100 μmol/mL 木糖标准液使用**提取液**稀释至 3.0、2.0、1.0、0.5、0.25、0.125 μmol/mL 即为标准稀释液。			

序号	A	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度（μmol/mL）	100	10	10	2.0	1.0	0.5	0.25
标准液体积（μL）	100	300	200	500	500	500	500
提取液体积（μL）	900	700	800	500	500	500	500
稀释后浓度（μmol/mL）	10	3.0	2.0	1.0	0.5	0.25	0.125

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿（光径 10 mm、狭缝 3 mm、体积 1.05 mL）、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

1.粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，4℃ 8000 g 离心 10 min，取上清液置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量（10^4 个）：提取液体积（mL）为（500-1000）：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率 300 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 3 min），4℃ 8000 g 离心 10 min，取上清液置于冰上待测。

③培养液等液体样本：原液体样本或离心后取上清即为粗酶液，直接检测或稀释后再进行检测。

2.测定步骤

①分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 540 nm，蒸馏水调零。

②在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管（μL）	对照管（μL）	标准管（μL）	空白管（μL）
粗酶液	200	200	-	-
标准稀释液	-	-	200	-
提取液	300	300	300	500
试剂一	200	-	200	200
充分混匀，50℃准确反应 30 min 立即沸水浴处理 10 min，冷却至室温				
试剂一	-	200	-	-
试剂二	300	300	300	300
试剂三	100	100	100	100
充分混匀，沸水浴处理 5 min，冷却至室温				

注：50℃反应过程与沸水浴处理过程注意密封以防止水分散失。

吸光值测定：将反应液置于 1 mL 玻璃比色皿中，测定 540 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白；计算ΔA 测定=A 测定-A 对照，ΔA 标准=A 标准-A 空白。注：每个样本均需设一个对照管，各浓度标准管和空白管只需测定 1-2 次。

标准曲线的建立：以 3.0、2.0、1.0、0.5、0.25、0.125 μmol/mL 为横坐标（x），以其对应的ΔA 标准为纵坐标（y），绘制标准曲线，得到线性回归方程 y=kx+b，将ΔA 测定代入方程中得到 x（μmol/mL）。

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

3.酸性木聚糖酶（ACX）活性计算

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：50℃ pH 4.8 条件下，每 mg 组织蛋白每分钟分解木聚糖生成 1 μmol 还原糖所需酶量定义为一个酶活力单位。

$$ACX（U/mg\ prot）= \frac{x \times D}{Cpr \times T} = \frac{0.033 \times x \times D}{Cpr}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：50℃ pH 4.8 条件下，每 g 组织每分钟分解木聚糖生成 1 μmol 还原糖所需酶量定义为一个酶活力单位。

$$ACX（U/g）= \frac{x \times V_{样总} \times D}{W \times T} = \frac{0.033 \times x \times D}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：50℃ pH 4.8 条件下，每 10^4 个细菌或细胞每分钟分解木聚糖生成 1 μmol 还原糖所需酶量定义为一个酶活力单位。

$$ACX（U/10^4\ cell）= \frac{x \times V_{样总} \times D}{细菌或细胞数量 \times T} = \frac{0.033 \times x \times D}{细菌或细胞数量}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：50℃ pH 4.8 条件下，每 mL 液体样本每分钟分解木聚糖生成 1 μmol 还原糖所需酶量定义为一个酶活力单位。

$$ACX（U/mL）= \frac{x \times D}{T} = 0.033 \times x \times D$$

注释：V 样总：粗酶液总体积，1 mL；Cpr：粗酶液蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计，若 500 万细菌或细胞则代入 500 即可；T：酶促反应时间，30 min；D：粗酶液稀释倍数，若未稀释则为 1。

四、注意事项

①若 A 测定或ΔA 测定超出标准吸光值线性范围：高于最高值建议将粗酶液使用**提取液**适当稀释后再进行测定，低于最低值建议适当延长酶促反应时间（50℃准确反应时间可以延长至 2 h 以上）或制备更高浓度样本后再进行测定，计算时相应修改；

②为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。