

## Neutral Xylanase Assay Kit

### 中性木聚糖酶（NEX）测定试剂盒说明书

货号：G0710W | 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。

中性木聚糖酶（NEX）在中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 NEX 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°C保存	
试剂一	25mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	粉体 mg×1 瓶	4°C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°C保存	
标准品	粉剂×1 支	4°C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、中性木聚糖酶（NEX）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°C放置 10min；12000rpm，4°C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°C放置 10min；12000rpm，4°C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°C放置 10min；12000rpm，4°C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°C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°C，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：

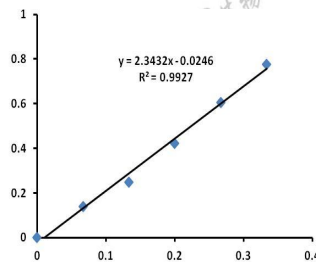
试剂名称 (μL)	测定管	对照管
样本	50	50
试剂一	50	50
试剂二	50	

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（ $\mu\text{mol}$ ），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，PH6.0 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中性木聚糖酶的活力单位。

$$\begin{aligned} \text{NEX 活力}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mg prot}) &= [(\Delta A + 0.0246) \div 2.3432 \times 10^3] \div (\text{Cpr} \times V1 \div V) \div T \times D \\ &= 142.3 \times (\Delta A + 0.0246) \div \text{Cpr} \times D \end{aligned}$$

3、按鲜重计算：

酶活定义：40°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。

$$\begin{aligned} \text{NEX 活力}(\text{nmol}/\text{min}/\text{g 鲜重}) &= [(\Delta A + 0.0246) \div 2.3432 \times 10^3] \div (W \times V1 \div V) \div T \times D \\ &= 142.3 \times (\Delta A + 0.0246) \div W \times D \end{aligned}$$

4、按细菌/细胞密度计算：

酶活定义：40°C，PH6.0 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。

$$\begin{aligned} \text{NEX 活力}(\text{nmol}/\text{min}/10^4 \text{ cell}) &= [(\Delta A + 0.0246) \div 2.3432 \times 10^3] \div (500 \times V1 \div V) \div T \times D \\ &= 142.3 \times (\Delta A + 0.0246) \div 500 \times D \end{aligned}$$

5、按液体体积计算：

酶活定义：40°C，PH6.0 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中性木聚糖酶的活力单位。

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

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。