

土壤酸性木聚糖酶 (S-ACX) 活性检测试剂盒 (微量法)

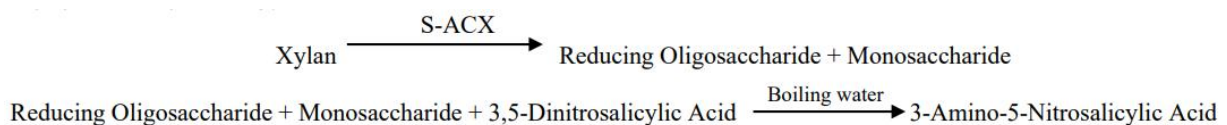
产品货号: BA2211

产品规格: 100T/48S

产品简介:

土壤酸性木聚糖酶 (Soil acid xylanase, S-ACX), 又称为土壤酸性半纤维素酶, 主要分离自最适生长pH为4-5的微生物。

在酸性环境中, S-ACX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S-ACX活性。



注意: 实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品组成:

试剂名称	规格	保存条件
缓冲液	液体35mL×1瓶	2-8°C
试剂一	液体18mL×1瓶	2-8°C
试剂二	液体15mL×1瓶	2-8°C
标准品	粉剂×1支	2-8°C

溶液的配制:

- 标准品稀释液的配制: 临用前按缓冲液: 试剂一= 4mL: 2mL (6mL, 约一条标曲稀释用量) 的比例进行配制, 现配现用。
- 标准品: 10mg木糖。临用前加入667 μ L标准品稀释液配制成100 μ mol/mL的木糖标准液, 2-8°C保存8周。

需自备的仪器和用品:

可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96孔板、天平、低温离心机、水浴锅、研钵、30~50目筛、蒸馏水。

操作步骤:

一、样本处理 (可适当调整待测样本量, 具体比例可以参考文献)

新鲜土样自然风干或37°C烘箱风干, 过30~50目筛。

二、测定步骤

- 可见分光光度计/酶标仪预热30min以上, 调节波长至540nm。分光光度计用蒸馏水调零。
- 标准品的稀释: 临用前将标准品用标准品稀释液稀释为2、1.5、1.2、1、0.8、0.4、0.2 μ mol/mL的标准品待测。
- 标准品稀释表:



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

序号	稀释前浓度(μmol/mL)	标准品体积(μL)	稀释液体积(μL)	稀释后浓度(μmol/mL)
1	100	100	900	10
2	10	200	800	2
3	10	150	850	1.5
4	10	120	880	1.2
5	10	100	900	1
6	1	200	50	0.8
7	1	100	150	0.4
8	1	50	200	0.2

备注：实验中每管需要 150μL。

4. 样本测定（在 EP 管中加入下列试剂）

试剂名称(μL)	对照管	测定管	空白管	标准管
样本	0.05g	0.05g	-	-
缓冲液	200	200	-	-
试剂一	-	100	-	-
涡旋混匀，置于 50℃ 水浴锅中反应 2h，立即沸水浴中 10min 灭活。（注意不要让盖子爆开，以免进水，改变了反应体系），冷却至室温。			-	-
试剂一	100	-	-	-
常温，12000g 离心 10min，取上清			-	-
上清液	150	150	-	-
标准品	-	-	-	150
标准品稀释液	-	-	150	-
试剂二	100	100	100	100
涡旋混匀，沸水浴中准确显色 5min(注意不要让盖子爆开，以免进水改变了反应体系)，冷却至室温后，室温 12000g 离心 5min，吸取上清液 200 μL 于 96 孔板或微量玻璃比色皿中，测定各管 540nm 下的吸光度，分别记为 A 对照、A 测定、A 空白、A 标准。计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{对照}$ ， $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白}$ 。空白管和标准曲线只需测 1-2 次。每个测定管需设一个对照管。				

三、S-ACX 计算公式

1. 标准曲线的绘制：

根据标准管的浓度 (x, μmol/mL) 和吸光度 $\Delta A_{标准}$ (y, $\Delta A_{标准}$)，建立标准曲线。根据标准曲线，将 $\Delta A_{测定}$ (y, $\Delta A_{测定}$) 带入公式计算样本浓度 (x, μmol/mL)。

土壤 S-ACX 活性计算：

2. 酶活定义：50℃, pH4.8 条件下，每克土壤每小时分解木聚糖产生 1μmol 还原糖所需的酶量为一个酸性木聚糖酶的活性单位。

$$S-ACX \text{ 活性 (U/g 土样)} = x \times V_{反总} \div W \div T \times F = 0.15 \times x \div W \times F$$

V 反总：反应体系总体积，0.3mL；W：样本质量，g；T：反应时间，2h；F：稀释倍数。

注意事项：

- 若样本 $\Delta A < 0.01$ ，可适当增大样本量或者 50℃ 反应时间后测定；若样本 $\Delta A > 1.5$ 或者 A 测定 > 1.5 时，可用蒸馏水稀释上清液后测定，注意同步修改计算公式中的稀释倍数。
- 建议使用螺旋管，防止沸水浴过程中盖子爆开，改变反应体系。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com