

普鲁兰酶活性测定试剂盒（微板法）

产品货号：BA2752

产品规格：96样

产品简介：

普鲁兰酶是一种水解酶，广泛存在于微生物及动物、植物体内，能专一地分解淀粉和糖原及其衍生物分枝点的a-1,6-葡萄糖昔键。它的这种特性最早被用于淀粉结构的理论研究，到七十年代，普鲁兰酶的应用已扩展到淀粉糖浆、啤酒和酒精生产等多个淀粉深加工领域，并逐步从实验室阶段走向工业化规模。

普鲁兰酶催化普鲁兰分解产生还原糖，进一步与3,5-二硝基水杨酸反应，生成棕红色氨基化合物，经光谱扫描在540nm有特征光吸收，在一定范围内540nm光吸收值与还原糖生成量成正比。通过光吸收增加速率来计算普鲁兰酶活性大小。

测试盒组成和配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体100mL×1瓶	2-8°C	
试剂一	液体30mL×1瓶	2-8°C	
试剂二	粉剂×1瓶	2-8°C	用前甩几下使粉剂落入底部，再加22mL试剂一充分溶解备用；用不完的试剂4°C保存
试剂三	液体20mL×1瓶	2-8°C	
标准品	粉剂mg×1支	2-8°C	若重新做标曲，则用到该试剂

所需的仪器和用品：

酶标仪、96孔板、低温离心机、可调式移液器、水浴锅、研钵、冰和蒸馏水。

普鲁兰酶活性检测：

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：称样本0.1g(水分充足的样本可取0.5g)于研钵中，加入1mL提取液，冰浴匀浆后转入离心管中。12000rpm，4°C离心10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量(g): 提取液体积(mL)为1:5~10的比例进行提取。

② 液体样本：直接测定。若浑浊，离心后取上清检测。

2. 上机检测：

① 酶标仪预热30min以上，调节波长至540nm。

② 在EP管中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
样本	20	20 (95°C煮沸10min的酶液)
试剂二	100	100
混匀，50°C孵育30min		



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>

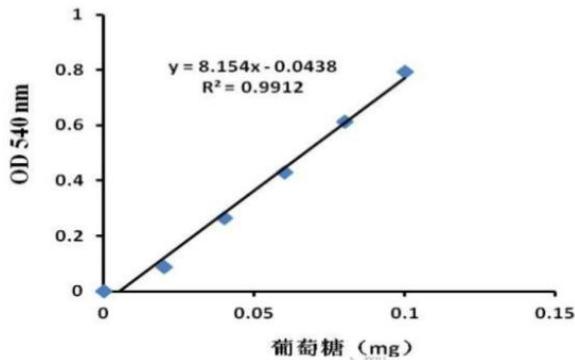
试剂三	100	100
混匀, 95水浴10min (用封口机膜缠紧, 以防止水分散失), 流水冷却至室温		
蒸馏水	500	500
混匀, 取出200μL至96孔板中, 于540nm处读取吸光值A, ΔA=A测定-A对照 (每个样本做一个自身对照)。		

【注】: 1.若A测定管的吸光值大于2, 可以用蒸馏水对整个显色混合液用蒸馏水进行稀释(如取显色混合液100μL至96孔板中, 再加100μL蒸馏水, 即稀释2倍), 则稀释倍数D需代入公式计算。或减少上清液体积V1(如减至10μL, 则加10μL蒸馏水补齐), 则V1需代入公式重新计算。

2.若ΔA值在零附近徘徊, 可增加样本加样体积V1(如增至40μL, 则最后蒸馏水体积相应减少, 保持反应总体积不变), 或延长50°C孵育时间T(如增至60min), 则相应的V1和反应时间T需代入公式重新计算。

结果计算:

- 标准曲线方程为 $y=8.154x-0.0438$; x为标准品质量(mg), y为ΔA。



- 按蛋白浓度计算:

单位定义: 37°C每毫克蛋白每分钟产生1μg还原糖定义为一个酶活性单位。

$$\text{普鲁兰酶活性}(\mu\text{g}/\text{min}/\text{mg prot}) = [(\Delta A + 0.0438) \div 8.154 \times 10^3] \div (V_1 \times C_{\text{pr}}) \div T = 204.4 \times (\Delta A + 0.0438) \div C_{\text{pr}}$$

- 按鲜重计算:

单位定义: 37°C每克组织每分钟产生1μg还原糖定义为一个酶活性单位。

$$\text{普鲁兰酶活性}(\mu\text{g}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = [(\Delta A + 0.0438) \div 8.154 \times 10^3] \div (W \times V_1 \div V_2) \div T = 204.4 \times (\Delta A + 0.0438) \div W$$

- 按液体样本计算:

单位定义: 37°C每毫升液体样本每分钟产生1μg还原糖定义为一个酶活性单位。

$$\text{普鲁兰酶活性}(\mu\text{g}/\text{min}/\text{mL 液体}) = [(\Delta A + 0.0438) \div 8.154 \times 10^3] \div W \times V_1 \div T = 204.4 \times (\Delta A + 0.0438) \div W$$

V---加入提取液体积, 1mL; V1---加入反应体系中样本体积, 0.02mL; T---反应时间, 30min; W--样本鲜重, g; Cpr---样本蛋白质浓度, mg/mL; 建议使用本公司的蛋白含量(考马斯亮蓝法)试剂盒, 不建议使用蛋白含量(BCA法)试剂盒。

附: 标准曲线制作过程:

- 制备标准品母液(5mg/mL): 向标准品EP管里面加入1mL蒸馏水(母液需在两天内用且-20°C保存)。
- 把母液稀释成六个浓度梯度的标准品: 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 1.0 mg/ml。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 按照: 20μL标准品+100μL蒸馏水+100μL试剂三, 95°C水浴10min, 冷却后, 再加500μL蒸馏水, 混匀, 取200μL至96孔板中, 540nm下测定, 根据结果即可制作标准曲线。



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>