

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 α -1,6-葡萄糖苷键。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℃	
试剂一	液体30mL×1瓶	2-8℃	
试剂二	粉剂×1瓶	2-8℃	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℃保存
试剂三	液体20mL×1瓶	2-8℃	
标准品	粉剂mg×1支	2-8℃	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℃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（ μ L）	测定管	对照管
样本	20	20（95℃煮沸10min的酶液）
试剂二	100	100
混匀，50℃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

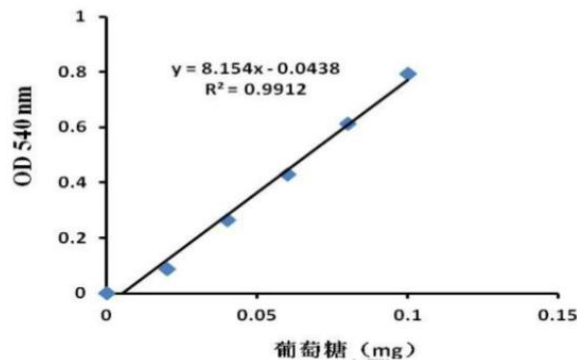
试剂三	100	100
混匀，95水浴10min（用封口机膜缠紧，以防止水分散失），流水冷却至室温		
蒸馏水	500	500
混匀，取出200μL至96孔板中，于540nm处读取吸光值A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ （每个样本做一个自身对照）。		

【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℃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为标准品质质量(mg)，y为 ΔA 。



- 按蛋白浓度计算：

单位定义：37℃每毫克蛋白每分钟产生1μg还原糖定义为一个酶活性单位。

普鲁兰酶活性($\mu\text{g}/\text{min}/\text{mg prot}$)= $[(\Delta A + 0.0438) \div 8.154 \times 10^3] \div (V1 \times \text{Cpr}) \div T = 204.4 \times (\Delta A + 0.0438) \div \text{Cpr}$

- 按鲜重计算：

单位定义：37℃每克组织每分钟产生1μg还原糖定义为一个酶活性单位。

普鲁兰酶活性($\mu\text{g}/\text{min}/\text{g 鲜重}$)= $[(\Delta A + 0.0438) \div 8.154 \times 10^3] \div (W \times V1 \div V2) \div T = 204.4 \times (\Delta A + 0.0438) \div W$

- 按液体样本计算：

单位定义：37℃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。

普鲁兰酶活性($\mu\text{g}/\text{min}/\text{mL 液体}$)= $[(\Delta A + 0.0438) \div 8.154 \times 10^3] \div W \times V1 \div T = 204.4 \times (\Delta A + 0.0438)$

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℃保存)。
- 把母液稀释成六个浓度梯度的标准品：0,1,2,3,4,5mg/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℃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