



普鲁兰酶活性测定试剂盒

可见分光光度法

货号: R43960-48S

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。

试剂盒的组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体60mL×1瓶	4℃保存	
试剂一	液体15mL×1瓶	4℃保存	
试剂二	粉剂×1瓶	4℃保存	用前甩几下使粉剂落入底部,再加入12mL试剂一充分溶解备用;用不完的试剂4℃保存;
试剂三	液体10mL×1瓶	4℃保存	
标准品	粉体mg×1支	4℃保存	若重新做标曲,则用到该试剂

所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL玻璃比色皿(光径1cm)、低温离心机、水浴锅、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水。

普鲁兰酶活性测定:

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:

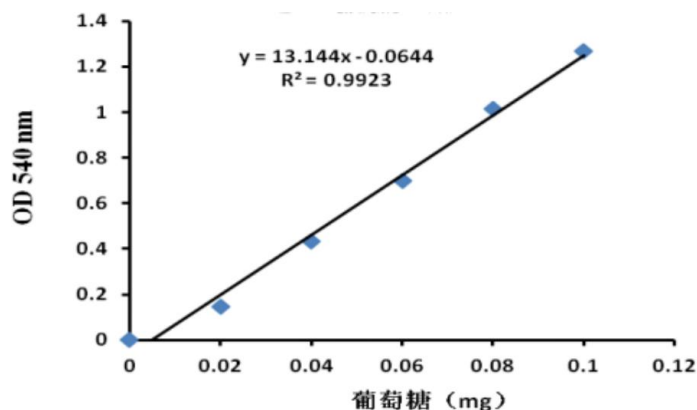
①可见分光光度计预热30min 以上, 调节波长至540nm, 蒸馏水调零。

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℃煮沸10min的酶液)
试剂二	100	100
混匀, 50℃孵育30min		
试剂三	100	100
混匀, 95℃水浴10min(用封口膜缠紧, 以防止水分散失), 流水冷却至室温。		
蒸馏水	500	500
混匀, 全部液体转移至1mL玻璃比色皿(光径1cm)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)。		

结果计算:

1、标准曲线方程为 $y = 13.144x - 0.0644$; x 为标准品质量 (mg), y 为 ΔA 。





2、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。

$$\text{普鲁兰酶活性}(\mu\text{g}/\text{min}/\text{mg prot})=[(\Delta A+0.0644)\div 13.144\times 10^3]\div (V_1\times C_{\text{pr}})\div T$$
$$=126.8\times (\Delta A+0.0644)\div C_{\text{pr}}$$

3、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。

$$\text{普鲁兰酶活性}(\mu\text{g}/\text{min}/\text{g 鲜重})=[(\Delta A+0.0644)\div 13.144\times 10^3]\div (W\times V_1\div V_2)\div T$$
$$=126.8\times (\Delta A+0.0644)\div W$$

4、按液体样本计算:

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

$$\text{普鲁兰酶活性}(\mu\text{g}/\text{min}/\text{mL 液体})=[(\Delta A+0.0644)\div 13.144\times 10^3\div V_1\div T$$
$$=126.8\times (\Delta A+0.0644)$$

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:

1.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)。

2.把母液稀释成六个浓度梯度的标准品: 0,1,2,3,4,5.mg/mL 。也可根据实际样本来调整标准品浓度。



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 400-666-5481 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: 3008007435@qq.com

3.按照: 20 μ L 标准品+100 μ L 蒸馏水+100 μ L 试剂三, 95℃水浴10min, 冷却后, 再加 500 μ L 蒸馏水, 混匀, 全部液体转移至1mL 玻璃比色皿(光径1cm) 中, 540nm 下测定, 根据结果即可制作标准曲线。



源叶