

## 普鲁兰酶活性测定试剂盒（可见分光光度法）

产品货号：BA2751

产品规格：48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 $\alpha$ -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60mL×1瓶	2-8℃	
试剂一	液体15mL×1瓶	2-8℃	
试剂二	粉剂×1瓶	2-8℃	使用前甩几下使粉剂落入底部，再加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	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：

可见分光光度计、1mL玻璃比色皿（光径1cm）、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 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（ $\mu$ 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		
试剂三	100	100



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

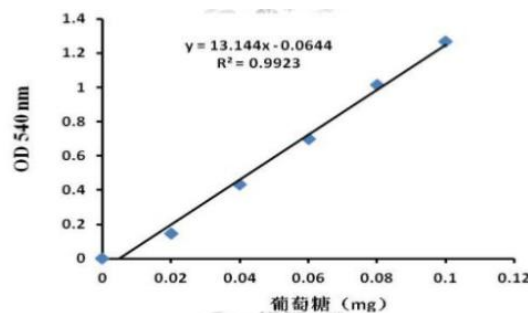
混匀，95水浴10min（用封口机膜缠紧，以防止水分散失），流水冷却至室温		
蒸馏水	500	500
混匀，全部液体转移至1mL玻璃比色皿（光径1cm）中，于540nm处读取吸光值A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ （每个样本做一个自身对照）。		

**【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360 $\mu$ L至1mL玻璃比色皿（光径1cm）中，再加360 $\mu$ L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10 $\mu$ L，则加10 $\mu$ L蒸馏水补齐)，则V1需代入公式重新计算。

2.若 $\Delta A$ 值在零附近徘徊，可增加样本加样体积V1(如增至40 $\mu$ L，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 $^{\circ}$ 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：

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



2. 按蛋白浓度计算：

单位定义：37 $^{\circ}$ C每毫克蛋白每分钟产生1 $\mu$ g还原糖定义为一个酶活性单位。

普鲁兰酶活性( $\mu$ g/min/mg prot)=[ $(\Delta A + 0.0644) \div 13.144 \times 10^3$ ] $\div (V1 \times Cpr) \div T = 126.8 \times (\Delta A + 0.0644) \div Cpr$

3. 按鲜重计算：

单位定义：37 $^{\circ}$ C每克组织每分钟产生1 $\mu$ g还原糖定义为一个酶活性单位。

普鲁兰酶活性( $\mu$ g/min/g 鲜重)=[ $(\Delta A + 0.0644) \div 13.144 \times 10^3$ ] $\div (W \times V1 \div V2) \div T = 126.8 \times (\Delta A + 0.0644) \div W$

4. 按液体样本计算：

单位定义：37 $^{\circ}$ C每毫升液体样本每分钟产生1 $\mu$ g还原糖定义为一个酶活性单位。

普鲁兰酶活性( $\mu$ g/min/mL 液体)=[ $(\Delta A + 0.0644) \div 13.144 \times 10^3$ ] $\div V1 \div T = 126.8 \times (\Delta A + 0.0644)$

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 $^{\circ}$ C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。
3. 按照：20 $\mu$ L标准品+100 $\mu$ L蒸馏水+100 $\mu$ L试剂三，95 $^{\circ}$ C水浴10min，冷却后，再加500 $\mu$ 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。



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