

菠萝蛋白酶检测试剂盒（福林酚微板法）

产品货号: BA1567

产品规格: 100T

产品简介:

菠萝蛋白酶(Bromelain)简称菠萝酶, 亦称凤梨酶、凤梨酵素等, 是存在于菠萝植株中的蛋白水解酶, 可从菠萝果茎、叶、皮提取出来, 经精制、提纯、浓缩、酶固定化、冷冻干燥而得到, 菠萝蛋白酶已被广泛应用于食品、医药等行业。利用吸附力、离子键、共价键等不同的联结方式, 将酶与不溶性载体联结, 制成固定化酶, 可以很好的避免酶的失活, 易于储存运输。

菠萝蛋白酶检测试剂盒(福林酚微板法)检测原理是通过蛋白酶催化底物酪蛋白, 后者水解生成酪氨酸, 酪氨酸含有酚羟基, 可与福林试剂发生福林反应, 即福林试剂在碱性条件下容易定量的被酚类化合物还原, 生成钨蓝和钼蓝的混合物, 呈现不同深浅的蓝色。于酶标仪检测吸光度, 以吸光度的大小与酪氨酸含量的多少有关, 吸光大说明酪氨酸含量高, 也就是说菠萝蛋白酶分解的酪蛋白多, 酶活性高。该试剂盒主要用于植物组织尤其时菠萝的匀浆液中菠萝蛋白酶活性, 尤其适用于检测菠萝中菠萝蛋白酶活性。该试剂盒仅用于科研领域, 不宜用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

产品名称	100T	保存条件
试剂(A): 组织匀浆液	500ml	4℃
试剂(B): Bromelain Lysis buffer	500ml	4℃, 避光
试剂(C): Bromelain洗脱液	100ml	4℃
试剂(D): 酪蛋白标准(10mg/ml)	1ml	4℃, 避光
试剂(E): 酪蛋白溶液	10ml	4℃

自备材料:

1. 蒸馏水
2. 研钵或匀浆器
3. 离心管
4. 离心机
5. 酶标板
6. 酶标仪

操作步骤（仅供参考）:

1. 准备样品:

①植物样品: 取菠萝肉或植物组织, 切碎后在研钵或匀浆器中加入等体积组织匀浆液进行研磨或匀浆, 静置, 滤纸过滤或纱布过滤。留取滤液, 边搅拌边加入Bromelain Lysis buffer, 搅拌, 静置。离心, 弃上清液, 收集沉淀, 加入Bromelain洗脱液, 搅拌洗脱。离心, 取上清液, 冻存, 用于菠萝蛋白酶的检测。

②固定化酶: 称取适量的固定化酶, 溶解于组织匀浆液, 混匀, 待用。

③高活性样品: 如果样品中含有较高活性的菠萝蛋白酶, 可以使用蒸馏水或组织匀浆液进行恰当的稀释。

2. 制作酪氨酸标准: 取适量的酪氨酸标准, 按下表配制不同浓度的酪氨酸标准备用。



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

加入物 (ml)	0	1	2	3	4	5
酪氨酸标准 (10mg/ml)	0	0.02	0.04	0.06	0.08	0.1
蒸馏水	1	0.48	0.46	0.94	0.92	0.9
酪氨酸浓度 (mg/ml)	0	0.01	0.02	0.06	0.08	0.1

- 处理待测样品：取两支离心管，分别加入待测样品。一支置于孵育后加入提前孵育的酪蛋白溶液，混匀，准确孵育，立即加入酪蛋白终止液，迅速摇匀灭活，作为测定液。同时取另一支直接加入酪蛋白终止液，迅速摇匀灭活，加入提前孵育的酪蛋白溶液，混匀，准确孵育，作为对照液。以上两支含有测定液和对照液的离心管室温放置。离心，分别取上清液待用。
- 加样：按照下表设置对照孔、标准孔、测定孔。溶液应按照顺序依次加入，并注意避免产生气泡。如果样品中的菠萝蛋白酶活性过高，可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定。样品的检测最好能设置平行管，求平均值。

加入物 (μl)	对照孔	标准孔	测定孔
对照液	35		
系列酪蛋白标准 (0-5号孔)		35	
测定液			35
Bromelain Assay buffer	175	175	175
福林试剂	35	35	35

- 菠萝蛋白酶检测：充分混匀，孵育显色，立即以酶标仪，以对照孔为对照，测定测定孔的吸光度。同时以酪氨酸标准0号孔为空白对照，测定系列酪氨酸标准(1-5号孔)的吸光度。

计算：

以酪氨酸浓度(mg/ml)为横坐标，以对应的吸光度值为纵坐标，绘制酪氨酸标准曲线。通过横坐标的吸光度值，在标准曲线上查得各测定孔中酪氨酸浓度(mg/ml)。

菠萝蛋白酶活性单位的定义：在该实验条件下，水解酪蛋白产生酪氨酸所需的酶量为一个活性单位。其比活力定义：其每毫克蛋白所含蛋白酶活力单位得数量。

$$\text{菠萝蛋白酶(U)} = \{\text{测定管酪氨酸浓度} \times 2 \times 1000\} / 15$$

注意事项：

- 待测样品中不能含有酶抑制剂，同时需避免反复冻融。
- 菠萝蛋白酶提取时，注意低温操作，防止酶活性，亦可-20℃保存。
- 如果没有分光光度计，也可以使用普通的酶标仪测定。每次检测指标不宜过多，否则操作时间不一，有可能导致样本间的差异。
- 离心时最好采用低温离心机，常温离心机也可。

有效期：6个月有效。



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