

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, 可与福林酚试剂发生福林酚反应, 即福林酚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, 吸光度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℃
试剂(F): 酪蛋白终止液	30ml	室温, 避光
试剂(G): Bromelain Assay buffer	20ml	室温
试剂(H): 福林试剂	4ml	4℃, 避光

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10g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, 4℃静置30min, 滤纸或4~6层纱布过滤, 留取滤液, 边搅拌边加入10ml Bromelain Lysis buffer, 搅拌约10min, 4℃静置1h, 4℃4000r/min离心7~10min, 弃上清液, 收集沉淀, 加入2~3倍体积的Bromelain洗脱液, 搅拌洗脱20min。



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

再次4℃4000r/min离心7~10min，取上清液，-20℃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0.5ml组织匀浆液，混匀，-20℃冻存待用。

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. 处理待测样品：取两支离心管，按下表顺序依次操作。含有测定液和对照液的离心管室温放置15min，3000r/min离心7~10min，分别取上清液待用。

单位：ml	样品对照孔
待测样品（提前40℃孵育）	0.1
酪蛋白终止液（提前40℃孵育）	0.3
摇匀灭活。	
酪蛋白溶液（提前40℃孵育）	0.1
混匀后40℃准确孵育10min。	

单位：ml	样品测定孔
待测样品（提前40℃孵育）	0.1
酪蛋白溶液（提前40℃孵育）	0.1
混匀后40℃准确孵育10min。	
酪蛋白终止液（提前40℃孵育）	0.3
摇匀灭活。	

3. 稀释系列酪氨酸标准：取适量的酪氨酸标准(0.1mg/ml)，按下表配制不同浓度的酪氨酸标准备用。

加入物质(μl)	1	2	3	4	5
酪氨酸标准(0.1mg/ml)	10	20	30	40	50
蒸馏水	40	30	20	10	0
酪氨酸浓度(mg/ml)	0.02	0.04	0.06	0.08	0.1

4. Bromelain加样：取96孔板，按照下表设置空白孔、标准孔、样品对照孔、样品测定孔，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2平行管，求平均值。

加入物质(μl)	空白孔	标准孔	样品对照孔	样品测定孔
蒸馏水	35	-	-	-
系列酪氨酸标准(1~5号)	-	35	-	-
对照液	-	-	35	-
测定液	-	-	-	35
Bromelain Assay buffer	175	175	175	175
福林酚试剂	35	35	35	35

5. Bromelain测定：充分混匀，40℃孵育显色15min，以对照孔调零，酶标仪测定680nm处测定孔的吸光度；同时以空白孔调零，酶标仪测定680nm处系列酪氨酸标准(1~5号)孔的吸光度。

计算：

以系列酪氨酸标准(1~5号)浓度(mg/ml)为横坐标，对应的吸光度值为纵坐标，绘制酪氨酸标准曲线，通过样品测定管的吸光度，在标准曲线上查得各测定孔中酪氨酸浓度。菠萝蛋白酶活性单位的定义：在40℃pH7.0时，每分钟水解酪蛋白产生1μg酪氨酸所需的酶量为一个活性单位。其比活力定义：每毫克蛋白所含蛋白酶活力单位的数量。



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

菠萝蛋白酶(U)=(测定液的酪氨酸浓度×1000)/15

式中：测定管的酪氨酸浓度单位为mg/ml

1000=μg与mg的单位换算

15=孵育时间15min

注意事项：

1. 待测样品中不能含有酶抑制剂，同时需避免反复冻融。
2. 菠萝蛋白酶提取时，注意低温操作，防止酶活性，亦可-20℃保存。
3. 如果没有酶标仪，也可以使用分光光度计测定。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。
4. 离心时最好采用低温离心机，常温离心机也可。
5. 酪蛋白终止液有一定腐蚀性，请小心操作。
6. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：6个月有效。4℃运输，4℃保存。



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>