

α -Amylase Activity Assay Kit

α -淀粉酶活性检测试剂盒 分光法

产品编号	产品名称	规格
BL1415A	α -淀粉酶活性检测试剂盒 分光法	24T

产品简介:

淀粉酶包括 α -淀粉酶(α -AL)和 β -淀粉酶(β -AL)。淀粉酶催化淀粉水解生成还原糖,是生物体利用淀粉进行碳水化合物代谢的初级反应。本试剂盒采用 70°C 加热钝化 β -淀粉酶来检测 α -淀粉酶的活力。即 α -淀粉酶催化淀粉水解生成的还原糖能使 3,5-二硝基水杨酸生成棕红色得 3-氨基-5-硝基水杨酸,在 540 nm 有吸收峰;通过测定 540 nm 吸光度增加速率,计算淀粉酶活性。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 30mL×1 瓶	4°C 保存	
试剂一	液体 6mL×1 瓶	4°C 保存	若有沉淀析出,需 70°C 加热溶解后再用。
试剂二	液体 24mL×1 瓶	4°C 保存	
标准品	粉末×1 支	4°C 保存	若重新做标曲,则用到该试剂。

使用方法:

建议正式实验前,选取 2 个样本做预测定,了解实验样品情况,熟悉流程,避免样本和试剂浪费!

一、样本准备:

1. 组织样本:

- 称取约 0.2g 组织(水分充足的样本可取 1g),加入 1mL 经预冷的 95%乙醇冰浴匀浆,4°C 放置 10min;
- 12000rpm, 4°C 离心 5min;
- 弃上清,留沉淀,向沉淀中加入经预冷的 1mL 的 80%乙醇混匀,4°C 放置 10min;
- 12000rpm, 4°C 离心 5min, 弃上清,留沉淀;
- 再向沉淀中加入 1mL 经预冷提取液,涡旋混匀,4°C 放置 10min;
- 12000rpm, 4°C 离心 10min, 取上清液置冰上待测。

2. 细菌/培养细胞:

- 先收集细菌或细胞到离心管内,离心后弃上清;
- 取约 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液超声波破碎细菌或细胞(冰浴,功率 20%或 200W,超声 3s,间隔 10s,重复 30 次);
- 在室温下放置提取 20min,每隔 5min 振荡 1 次,使其充分提取;
- 12000rpm, 4°C 离心 10min, 上清液置冰上待测。

【注】:若增加样本量,可按每 $0.5\sim 1\times 10^7$ 个细菌/细胞数量加入 1mL 提取液的比例进行提取。

- 液体样本:若液体澄清,直接检测;若浑浊,离心后取上清检测。

二、样品测定:

- 可见分光光度计预热 30min, 设定波长到 540nm, 蒸馏水调零。
- 试剂一和试剂二 40°C 预热 10min。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意:在体外研究使用,不用于诊断或治疗用途,本产品不是医疗装置。



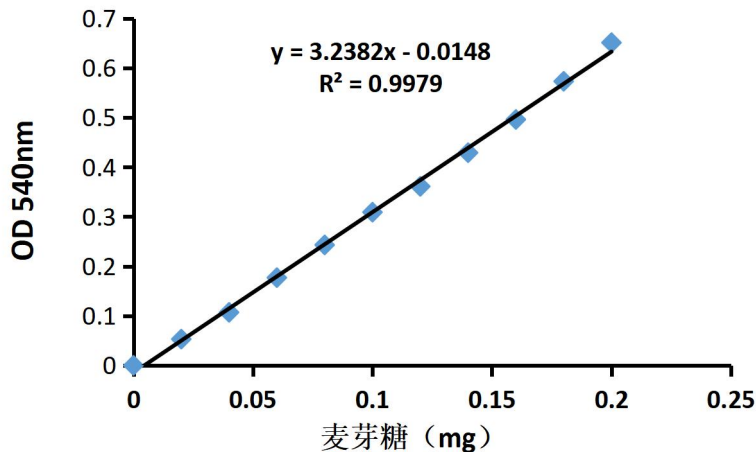
3. 在离心管中依次加入:

试剂 (μL)	测定管	对照管
α-淀粉酶上清液	200	200
70°C水浴 15min 左右, 流水冷却。		
蒸馏水	-	200
试剂一	200	-
40°C恒温水浴中准确保温 5min。		
试剂二	450	450
混匀, 95°C水浴 5min, 流水冷却, 全部转移至 1mL 的玻璃比色皿中, 540nm 处读取吸光值 A, $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ (每个测定管需设一个对照管)。		

- 【注】:** 1. 若 ΔA 在零附近如低于 0.01, 可增加样本取样质量 W, 或增加样本加样量 V1 (如由 200μL 增至 300μL, 则试剂二相应减少, 保持总体积不变), 或延长反应时间 T (如由 5min 增至 20min), 则改变后的 W 和 V1 和 T 需代入计算公式重新计算。
2. 若 ΔA 值大于 1, 则可减少加样体积 V1 (如由 200μL 减至 50μL, 另补加 150μL 蒸馏水), 或者单独对 α-淀粉酶上清液用蒸馏水稀释后再取 200μL 加样测定。则改变后的 V1 和稀释倍数 D 代入公式重新计算。

三、含量计算

1. 标准曲线方程: $y = 3.2382x - 0.0148$; x 为标准品浓度 (mg), y 为吸光值 ΔA 。



2. 按照样本质量计算:

单位定义: 每克组织每分钟催化产生 1μg 麦芽糖定义为 1 个酶活力单位。

$$\alpha\text{-淀粉酶活性}(\mu\text{g}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = [(\Delta A_{\alpha\text{-淀粉酶}} + 0.0148) \div 3.2382 \times 10^3] \div (W \times V1 \div V) \div T \\ = 308.8 \times (\Delta A_{\alpha\text{-淀粉酶}} + 0.0148) \div W$$

3. 按照蛋白质含量计算:

单位定义: 每毫克组织蛋白每分钟催化产生 1μg 麦芽糖定义为 1 个酶活性单位。

$$\alpha\text{-淀粉酶活性}(\mu\text{g}/\text{min}/\text{mg prot}) = [(\Delta A_{\alpha\text{-淀粉酶}} + 0.0148) \div 3.2382 \times 10^3] \div (V1 \div V \times Cpr) \div T \\ = 308.8 \times (\Delta A_{\alpha\text{-淀粉酶}} + 0.0148) \div Cpr$$

4. 按细菌/细胞密度计算:

单位定义: 每 1 万个细菌或细胞每分钟催化产生 1μg 麦芽糖定义为 1 个酶活性单位。

$$\alpha\text{-淀粉酶活性}(\mu\text{g}/\text{min}/\text{mg prot}) = [(\Delta A_{\alpha\text{-淀粉酶}} + 0.0148) \div 3.2382 \times 10^3] \div (V1 \div V \times 500) \div T \\ = 0.62 \times (\Delta A_{\alpha\text{-淀粉酶}} + 0.0148)$$

5. 液体样本中 α-淀粉酶活性计算:

单位定义: 每毫升每分钟催化产生 1μg 麦芽糖定义为 1 个酶活性单位。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



$$\alpha\text{-淀粉酶活性}(\mu\text{g}/\text{min}/\text{mL})=[(\Delta A_{\alpha\text{-淀粉酶}}+0.0148)\div 3.2382\times 10^3]\div V1\div T$$
$$=308.8\times(\Delta A_{\alpha\text{-淀粉酶}}+0.0148)$$

V---提取液总体积, 1 mL

V1---加入反应体系中样本体积, 200 μ L =0.2 mL

T---反应时间, 5min

Cpr---样本蛋白质浓度, mg/mL

W---样本质量, g

500---细菌或细胞总数, 500 万

D---稀释倍数, 未稀释即为 1

附: 标准曲线制作过程:

- 1 制备标准品母液 (1mg/mL): 向标准品离心管里面加入 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, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1. mg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 200 μ L 标准品+200 μ L 蒸馏水+450 μ L 试剂三, 混匀, 95 度水浴 5min, 流水冷却, 全部转移至 1mL 的玻璃比色皿中, 540nm 处读取吸光值, 以标准品质量为横坐标, 吸光度值为纵坐标, 即可制作标准曲线。

注意事项:

- 1、 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品。
- 2、 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:

4 $^{\circ}$ C保存六个月。

