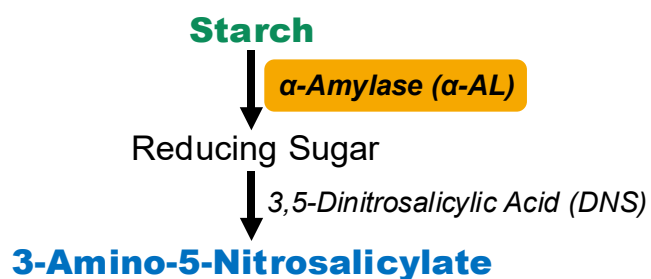




α -淀粉酶 (α -AL) 活性检测试剂盒
 α -Amylase (α -AL) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



α -淀粉酶 (α -AL) 活性检测试剂盒

α -Amylase (α -AL) Activity Assay Kit

一、产品描述

α -淀粉酶 (α -AL) 普遍分布在动物、植物和微生物中，是一种重要的淀粉水解酶，能够以随机作用的方式切断淀粉、糖原、寡聚或多聚糖分子内的 α -1,4 葡萄糖苷键，生成麦芽糖、低聚糖和葡萄糖等，是工业生产中应用最为广泛的酶制剂之一。

α -淀粉酶能够催化淀粉水解生成还原糖，进一步与 3,5-二硝基水杨酸反应生成棕红色物质，产物在 540 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征 α -淀粉酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体 30 mL×1 瓶	4°C避光保存	-
试剂二	粉剂×1 瓶	4°C保存	使用前加入 15 mL 试剂三充分混匀 (置于沸水浴中不断混匀至完全溶解)
试剂三	液体 15 mL×1 瓶	4°C保存	-
标准品	粉剂×1 支 (10 mg 葡萄糖标准品)	4°C保存	使用前加入 1 mL 蒸馏水充分溶解 (即为 10 mg/mL 葡萄糖标准液)
标准稀释液的制备 (现用现配): 使用前将 10 mg/mL 葡萄糖标准液使用蒸馏水稀释至 0.5、0.25、0.125、0.0625、0.03125、0.015625 mg/mL 即为标准稀释液。			

序号	A	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度 (mg/mL)	10	1.0	0.5	0.25	0.125	0.0625	0.03125
标准液体积 (μ L)	100	200	200	200	200	200	200
蒸馏水体积 (μ L)	900	200	200	200	200	200	200
稀释后浓度 (mg/mL)	1.0	0.5	0.25	0.125	0.0625	0.03125	0.015625

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：酶标仪、96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1.粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样品量及比例）

称取 100 mg 样本，加入 1 mL 蒸馏水充分匀浆，室温提取 15 min（每隔 5 min 振荡混匀 1 次），8000 g 常温离心 10 min，吸取 100 μ L 上清液至另一离心管中，加入 900 μ L 蒸馏水充分混匀，即为粗酶液，置于冰上待测。

2.测定步骤

①酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 540 nm。

②灭活酶液的制备：吸取 150-200 μ L 粗酶液沸水浴处理 5 min（密封以防止水分散失），冷却至室温，即为灭活酶液。

③在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μ L)	对照管 (μ L)	标准管 (μ L)	空白管 (μ L)
粗酶液	100	-	-	-
灭活酶液	-	100	-	-
标准稀释液	-	-	100	-
蒸馏水	-	-	-	100
充分混匀，70°C处理 15 min，冷却至室温				
试剂二	100	-	-	-
充分混匀，40°C准确反应 5 min				
试剂一	200	200	200	200
试剂二	-	100	100	100
充分混匀，沸水浴处理 10 min，冷却至室温				

注：70°C和沸水浴处理过程中注意密封以防止水分散失。

吸光值测定：吸取 200 μ L 反应液至 96 孔板中，测定 540 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白；计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。注：每个样本均需设一个对照管，各浓度标准管和空白管只需测定 1-2 次。

标准曲线的建立：以 0.5、0.25、0.125、0.0625、0.03125、0.015625 mg/mL 为横坐标 (x)，以其 $\Delta A_{\text{标准}}$ 为纵坐标 (y)，绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入公式中得到 x (mg/mL)。

3. α -淀粉酶 (α -AL) 活性计算

①按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟催化生成 1 mg 还原糖定义为一个酶活力单位。

$$\alpha\text{-AL (U/g)} = \frac{x \times V1 \times (V_{\text{上清}} + V2)}{W \times T \times V_{\text{上清}}} = \frac{2 \times x}{W}$$

②按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟催化生成 1 mg 还原糖定义为一个酶活力单位。

$$\alpha\text{-AL (U/mg prot)} = \frac{x}{\text{Cpr} \times T} = \frac{0.2 \times x}{\text{Cpr}}$$

注释： V1：粗酶液制备过程中第一次加入蒸馏水体积，1 mL；V2：粗酶液制备过程中第二次加入蒸馏水体积，0.9 mL；V 上清：粗酶液制备过程中吸取上清液的体积，0.1 mL；Cpr：粗酶液蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；T：酶促反应时间，5 min。

四、注意事项

①若 A 测定超出标准吸光值线性范围：高于最高值建议将粗酶液使用蒸馏水适当稀释后再进行测定；低于最低值建议适当增加酶促反应时间（40°C 准确反应 5 min，可以延长至 30 min 以上）或制备更高浓度的粗酶液后再进行测定，计算时相应修改；

②试剂二加入试剂三后可缓慢加热至煮沸，加热至溶液呈均一状态即可，若使用过程中出现沉淀 70°C 水浴加热溶解后再使用；

③准确在规定时间点完成吸光值测定，以确保检测结果的准确性和重复性；若样本较多可分批进行检测，以确保组间反应时间一致；

④为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

