

α -淀粉酶 (α -AL) 活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AMHA6-M48	α -淀粉酶 (α -AL) 活性检 测试剂盒	48T	微量法
AMHA6-M96		96T	

一、测定意义：

α -淀粉酶(EC 3.2.1.1)可随机地作用于淀粉中的 α -1,4-糖苷键,生成葡萄糖、麦芽糖、麦芽三糖、糊精等还原糖, 同时使淀粉的粘度降低,因此又称为液化酶。

二、测定原理：

淀粉水解酶催化淀粉水解生成还原糖, 还原糖还原3,5-二硝基水杨酸生成棕红色物质, 在540nm有吸收峰; 通过测定540nm 吸光度增加速率, 计算淀粉酶活性。 α -AL耐热, 但是 β -淀粉酶可在70℃钝化15min。因此粗酶液经过70℃钝化15min, 就只有 α -AL能够催化淀粉水解。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量 (48T)	试剂装量 (96T)	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 110mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 15 mL×1 瓶	液体 30 mL×1 瓶	常温保存
试剂二	液体 20 mL×1 瓶	液体 20 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	粉剂×1 支	粉剂×1 支	2-8℃保存

工作液的配制: 临用前取 1 支试剂三加入到 1 瓶试剂二中, 置于常温水中并加热至煮沸, 期间不断搅拌粉剂至溶解, 用不完的试剂 2-8℃保存 4 周。

标准品 (10mg)	粉剂×1 支	粉剂×2 支	2-8℃保存
------------	--------	--------	--------

标准液的配制: 临用前加 1 mL 蒸馏水, 配成 10 mg/mL 标准液, 2-8℃保存两周。

四、操作步骤：

样本前处理

1、组织: 按照组织质量 (g) :提取液(mL)为 1:10 的比例 (建议称取 0.1 g 组织, 加入 1 mL 提取液) 进行冰浴匀浆。5000 rpm, 4℃离心 10 min, 取上清置冰上待测。

2、细菌/细胞: 按照细胞数量 (10^4 个): 试剂一体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细胞加入 1mL 提取液), 冰浴超声波破碎细胞 (功率 200W, 超声 3 秒, 间隔 7 秒, 总时间 5min); 然后 10000g, 4℃离心 10min, 取上清置于冰上待测。

3、血清 (浆) 等液体样本: 直接测定。若有浑浊请离心后取上清待测。

测定步骤

1、酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 540nm, 蒸馏水调零。

2、标准液的稀释: 将 10mg/mL 的标准液用蒸馏水稀释为 0.2、0.1、0.05、0.025、0.0125、0.00625 mg/mL 的标准溶液;

3、对照管样本处理: 取 100 μ L 样本沸水浴 5min 作为对照管使用;

4、操作表 (在离心管中加入以下试剂)

试剂名称	对照管	测定管	标准管	空白管
样本 (μ L)	-	100	-	-
煮沸样本 (μ L)	100	-	-	
蒸馏水 (μ L)	-	-	-	100
不同浓度标准液 (μ L)	-	-	100	-
置于 70℃水浴锅中准确反应 15min, 冷却至室温				
工作液 (μ L)	-	100	-	-
置于 40℃水浴锅中准确保温 10min				
试剂一 (μ L)	200	200	200	200
工作液 (μ L)	100	-	100	100
混匀, 沸水浴 10min, 流水冷却, 吸取 200 μ L 于 96 孔板中, 在 540nm 处读取吸光度, 分别记为 $A_{对照}$ 、 $A_{测定}$ 、 $A_{标准}$ 和 $A_{空白}$, 计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{对照}$, $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白}$ 。每个测定管需设一个对照管。空白管只需测 1-2 次。				

五、 α -淀粉酶 (α -AL) 活性计算:

1、标准曲线的制备: 以吸光度值为横坐标, 标准品浓度为纵坐标, 绘制标准曲线。将 $\Delta A_{测定}$ 带入标准曲线计算 y (mg/mL)。

2、血清样本 α -AL 计算

单位定义：每毫升血清每分钟催化产生1 mg 还原糖定义为1个酶活力单位。

计算公式： $\alpha\text{-AL (U/mL)} = y \times V_{\text{样}} \div V_{\text{总}} \div T = 0.1 \times y$

2、组织、细胞样本 α -AL计算

(1)按样本蛋白浓度计算

单位定义：每毫克组织蛋白每分钟催化产生1 mg 还原糖定义为1个酶活力单位。

计算公式： $\alpha\text{-AL (U/mg prot)} = y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 0.1 \times y \div C_{\text{pr}}$

(2)按样本鲜重计算

单位定义：每毫克组织蛋白每分钟催化产生1 mg 还原糖定义为1个酶活力单位。

计算公式： $\alpha\text{-AL (U/g)} = y \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{总}}) \div T = 0.1 \times y \div W$

(3) 按照细菌或细胞数量计算

单位定义：每1百万个细菌或细胞每分钟催化产生1 mg 还原糖定义为1个酶活力单位。

计算公式： $\alpha\text{-AL (U/10}^6\text{ cell)} = y \times V_{\text{样}} \div (5 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{总}}) \div T = 0.02 \times y$

$V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.1mL; $V_{\text{总}}$: 加入提取液体积, 1 mL; T: 反应时间, 10min; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; 5: 细胞/细菌数, 500万; W: 样本重量, g。

六、注意事项：

- 1、测定的吸光值大于1时, 可以对样本进行适当稀释后测定。若吸光值过小, 可以增加样本取样量或者提取浓度;
- 2、若试剂一有黄色晶体析出, 需加热溶解后再用;

3、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。

【厂家信息】

生产企业: 南京陌凡生物科技有限公司
地址: 南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期: 2025 年 4 月 7 日
修改日期: 2025 年 4 月 7 日