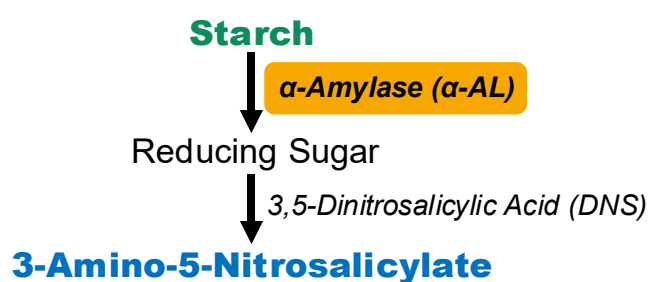




**$\alpha$ -淀粉酶 ( $\alpha$ -AL) 活性检测试剂盒**  
 **$\alpha$ -Amylase ( $\alpha$ -AL) Activity Assay Kit**



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



**$\alpha$ -淀粉酶 ( $\alpha$ -AL) 活性检测试剂盒** **$\alpha$ -Amylase ( $\alpha$ -AL) Activity Assay Kit****一、产品描述**

$\alpha$ -淀粉酶 ( $\alpha$ -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  $\alpha$ -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。

$\alpha$ -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  $\alpha$ -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 40 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 20 mL 试剂三充分混匀<br>(置于沸水浴中不断混匀至完全溶解)   |
| 试剂三                                                                                            | 液体 20 mL×1 瓶             | 4°C保存   | -                                          |
| 标准品                                                                                            | 粉剂×1 支<br>(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<br>(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 0.2、0.1、0.05、0.025、0.0125、0.00625 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 | 0.2 | 0.1  | 0.05  | 0.025  | 0.0125  |
| 标准液体积 ( $\mu$ L) | 100 | 200 | 500 | 500  | 500   | 500    | 500     |
| 蒸馏水体积 ( $\mu$ L) | 900 | 800 | 500 | 500  | 500   | 500    | 500     |
| 稀释后浓度 (mg/mL)    | 1.0 | 0.2 | 0.1 | 0.05 | 0.025 | 0.0125 | 0.00625 |

**三、产品使用说明**

**测定过程中所需要的仪器和试剂:** 可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿 (光径 10 mm、狭缝 3 mm、体积 1.05 mL)、研钵/匀浆器、可调式移液器、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  $\mu$ L 上清液至另一离心管中，加入 900  $\mu$ 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分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 540 nm，蒸馏水调零。

②灭活酶液的制备：吸取 300-400  $\mu$ 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<br>( $\mu$ L) | 对照管<br>( $\mu$ L) | 标准管<br>( $\mu$ L) | 空白管<br>( $\mu$ L) |
|--------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| 粗酶液                      | 250               | -                 | -                 | -                 |
| 灭活酶液                     | -                 | 250               | -                 | -                 |
| 标准稀释液                    | -                 | -                 | 250               | -                 |
| 蒸馏水                      | -                 | -                 | -                 | 250               |
| 充分混匀，70°C处理 15 min，冷却至室温 |                   |                   |                   |                   |
| 试剂二                      | 250               | -                 | -                 | -                 |
| 充分混匀，40°C准确反应 5 min      |                   |                   |                   |                   |
| 试剂一                      | 500               | 500               | 500               | 500               |
| 试剂二                      | -                 | 250               | 250               | 250               |
| 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：**将反应液置于 1 mL 玻璃比色皿中，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 0.2、0.1、0.05、0.025、0.0125、0.00625 mg/mL 为横坐标 (x)，以其对应的  $\Delta A_{\text{标准}}$  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. $\alpha$ -淀粉酶 ( $\alpha$ -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。

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

**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.

