

α-淀粉酶 (α-amylase, α-AL) 试剂盒说明书

试剂盒说明书

分光光度法 50 管/48 样

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

测定意义 V

淀粉酶负责水解淀粉，包括α-淀粉酶和β-淀粉酶。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。

测定原理：

还原糖还原 3,5-二硝基水杨酸生成棕红色物质。β-淀粉酶不耐热，在 70°C 钝化 15min，从而测定α-淀粉酶活性。

组成：

产品名称	SA009-50T/24S	Storage
试剂一：液体	25ml	RT
试剂二：液体	20ml	4°C
说明书	1 份	

自备仪器和用品：

可见分光光度计、恒温水浴锅、台式离心机、可调式移液器、玻璃比色皿、研钵和蒸馏水。

粗酶液制备：

组织：称取 0.1~0.2g 样本（建议称取约 0.1g 样本），加 1 mL 蒸馏水匀浆；将匀浆倒入离心管中，在室温下放置提取 15min，每隔 5min 振荡 1 次，使其充分提取；3000g，25°C 离心 10min，吸取上清液并且加蒸馏水定容至 10 mL，摇匀，即为淀粉酶原液。

血清（浆）：直接检测。

操作步骤和加样表（在 1.5mLEP 管中依次加入下列试剂）：

- 1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 540 nm，蒸馏水调零。
- 2、试剂一或试剂二 40°C 预热 10min
- 3、测定步骤

试剂 (μL)	对照管	测定管
---------	-----	-----

最终解释权所有 © 伊势久（江苏连云港）生物科技有限责任公司，保留一切权利



α-淀粉酶原液	250	250
70°C水浴 15min 左右, 冷却		
蒸馏水	250	
试剂二		250
在 40°C恒温水浴中准确保温 5min		
试剂一	500	500

混匀, 95°C水浴 5min, 冷却, 540nm 处读取对照管和测定管吸光度, 计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。

α-淀粉酶活性计算:

1、标准条件下测定回归曲线为 $y = 3.7215x - 0.1778$; x 为标准品浓度 (mg/mL), y 为吸光值。

2、α-淀粉酶活性

(1) 按照样本质量计算

单位定义: 每 g 组织每分钟催化产生 1mg 还原糖定义为 1 个酶活力单位。

$\alpha\text{-淀粉酶活性}(\text{mg}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = [(\Delta A + 0.1778) \div 3.7215 \times V_{\text{反总}}] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 1.075 \times (\Delta A + 0.1778) \div W$

(2) 按照蛋白质含量计算

单位定义: 每 mg 组织蛋白每分钟催化产生 1mg 还原糖定义为 1 个酶活性单位。

$\alpha\text{-淀粉酶活性}(\text{mg}/\text{min}/\text{mg prot}) = [(\Delta A + 0.1778) \div 3.7215 \times V_{\text{反总}}] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 0.1075 \times (\Delta A + 0.1778) \div C_{\text{pr}}$

(3) 血清 (浆) 样本中 α-淀粉酶活性计算

单位定义: 每 mL 血清 (浆) 每分钟催化产生 1mg 还原糖定义为 1 个酶活性单位。

$\alpha\text{-淀粉酶活性}(\text{mg}/\text{min}/\text{mL}) = [(\Delta A + 0.1778) \div 3.7215 \times V_{\text{反总}}] \div V_{\text{样}} \div T = 0.1075 \times (\Delta A + 0.1778)$

$V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, 0.5mL; $V_{\text{样}}$: 加入反应体系中样本体积, 0.25 mL; $V_{\text{样总}}$: 提取液总体积, 10 mL; C_{pr} : 样本蛋白质浓度, mg/mL; W : 样本质量, g; T : 反应时间, 5min。

