北京沃凯生物科技有限公司
全国免费电话:400-819-385
www.bjoka-vip.com
Tel:010-62971590. Fax:62340519
M-ail:postmaster@oka-vip.com

α-淀粉酶（α-amylase，α-AL）试剂盒说明书

分光光度法 50 管/24 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：

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℃钝化 15min，从而测定 α-淀粉酶活性。

需自备的仪器和用品：

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。

试剂的组成和配制：

试剂一：25mL×1 瓶，常温保存，若有黄色晶体析出，需 90℃加热溶解后再用；

试剂二：20mL×1 瓶，4℃保存，若有沉淀析出，需 70℃加热溶解后再用。

粗酶液提取：

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℃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℃预热 10min

3、测定步骤

试剂（μL）	对照管	测定管
α-淀粉酶原液	250	250
70℃水浴 15min 左右，冷却		
蒸馏水	250	
试剂二		250
在 40℃恒温水浴中准确保温 5min		
试剂一	500	500

混匀，95℃水浴 5min，冷却， 540nm 处读取对照管和测定管吸光度，计算 ΔA=A 测定管-A 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。

α-淀粉酶活性(mg/min/g 鲜重)=[(ΔA＋0.1778)÷3.7215×V 反总]÷(W×V 样÷V 样总)÷T=1.075×(ΔA＋0.1778)÷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。

α-淀粉酶活性(mg/min/mg prot)= [(ΔA＋0.1778)÷3.7215×V 反总]÷（V 样×Cpr）÷T=0.1075×(ΔA＋0.1778) ÷Cpr

（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。

α-淀粉酶活性(mg/min/mL)= [(ΔA＋0.1778)÷3.7215×V 反总]÷V 样÷T=0.1075×(ΔA＋0.1778)

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

