# α-淀粉酶（α-AL）活性检测试剂盒说明书（淀粉-碘比色法）

规格：96 样　　方法：酶标仪法

## 一、注意事项

1. 使用前请通读一遍说明书再开始实验。

2. 正式检测前选取 2~3 个样本进行预检测。

3. 本试剂盒仅用于科研。

## 二、产品组分

| 试剂名称 | 试剂规格 | 保存条件 | 备注 |
|---|---|---|---|
| 提取液 | 105 mL×1 | 4℃ | |
| 试剂一 | A：粉剂×4<br>B：空瓶×4 | 室温 | 用前把一支 A 全部倒入一个 B 空瓶中，再用 0.75 mL 试剂四涮洗试剂 A 的离心管后全部转至 B 瓶中，再向 B 瓶中加入 3 mL 试剂四（B 瓶中最终共 3.75 mL 试剂四），混匀后于 90-95 ℃水浴溶解至澄清状态，最好现配现用（若出现沉淀不可再使用）。 |
| 试剂二 | 1.1 mL×1 | 4℃ | |
| 试剂三 | 11 mL×1 | 4℃ | |
| 试剂四 | 18 mL×1 | 4℃ | |

## 三、仪器和用品

酶标仪、96 孔板、移液器、天平、可降温离心机、超纯水/蒸馏水、研磨仪/研钵、冰、水浴锅。

## 四、样品制备

1. 组织：按照组织质量（g）：经预冷提取液体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1 g 组织，加入 1 mL 经预冷提取液）进行冰浴匀浆（水分充足的样本可取 0.5 g），然后，10000 g，4℃，离心 10 min，置于冰上，上清为待测样本。

2. 细菌/细胞：按照细菌/细胞数量（$10^4$ 个）：提取液体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细胞加入 1 mL 提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率 200 W，超声 3 秒，间隔 10 秒，重复 30 次）；在室温下放置提取 20 min，每隔 5 min 振荡 1 次，使其充分提取；然后 10000 g，4℃，离心 10 min，置于冰上，上清为

待测样本。

3. 液体样本：澄清的液体的样本直接测定，若浑浊则离心后取上清液检测。

**五、测定步骤**

1. 酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 660 nm 处。

2. 试剂一于 37℃预热 10 min。

3. 在 1.5 mL 离心管中依次加入：

| | 测定管 | 空白管 |
|---|---|---|
| 样本（μL） | 20 | - |
| 超纯水/蒸馏水（μL） | - | 20 |
| 试剂一（μL） | 100 | 100 |
| 混匀，37℃孵育 5 min。 | | |
| 试剂二（μL） | 10 | 10 |
| 试剂三（μL） | 100 | 100 |
| 超纯水/蒸馏水（μL） | 600 | 600 |
| 充分混匀后，避光静置 10 min 后，取出 200 μL 至 96 孔板中，测定 660 nm 处吸光度值，记 A 测定、A 空白，ΔA=A 空白-A 测定。 | | |

**六、计算**

1. 按照液体体积计算：

单位定义：每 100 mL 液体在 37℃与底物作用 30 分钟，水解 10 mg 淀粉定义为 1 个酶活力单位。

**α-淀粉酶（α-AL）活性（10 mg/30 min/100 mL）**=[（ΔA÷A 空白）×C 底物×V 底物]×（100÷V1）×10×（30÷T）×F=480×（ΔA÷A 空白）×F

2. 按照样本质量计算：

单位定义：每克组织在 37℃与底物作用 30 分钟，水解 10 mg 淀粉定义为 1 个酶活力单位。

**α-淀粉酶（α-AL）活性（10 mg/30 min/g 鲜重）**=[（ΔA÷A 空白）×C 底物×V 底物]÷（W×V1÷V）×10×（30÷T）×F=4.8×（ΔA÷A 空白）÷W×F

3. 按照蛋白质浓度计算（需另测蛋白浓度）：

单位定义：每毫克组织蛋白在37℃与底物作用30分钟，水解10 mg淀粉定义为1个酶活力单位。

**α-淀粉酶（α-AL）活性（10 mg/30 min/mg prot）**=[（ΔA÷A空白）×C底物×V底物]÷（V1÷V×Cpr）×10×（30÷T）×F=4.8×（ΔA÷A空白）÷Cpr×F

4. 按细菌/细胞数量计算：

单位定义：每1万个细菌或细胞在37℃与底物作用30分钟，水解10 mg淀粉定义为1个酶活力单位。

**α-淀粉酶（α-AL）活性（10 mg/30 min/$10^4$ cell）**=[（ΔA÷A空白）×C底物×V底物]÷（V1÷V×N）÷10×（30÷T）×F=4.8×（ΔA÷A空白）÷N×F

V：提取液总体积，1 mL；W：样本质量，g；C底物：底物液浓度，1.6 mg/mL；V底物：底物液加入量即试剂一，0.1 mL；N：细菌或细胞总数，万个；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；V1：加入体系中样本体积，20 μL=0.02 mL；T：反应时间，5 min；F：稀释倍数。

## 七、产品简介

α-淀粉酶（α-Amylase）是催化α-1,4-糖苷键水解的内切型水解酶，广泛存在于动植物及微生物中。主要功能是将淀粉等多糖降解为小分子还原糖，为机体供能，在种子萌发、动物消化及工业糖化中发挥关键作用，是评价植物萌发活力及胰腺功能的重要指标。