

α -淀粉酶活性检测试剂盒 (碘-淀粉比色法) (微量法)

产品货号: BA1928

产品规格: 100T/48S

产品简介:

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。

α -淀粉酶催化淀粉分子中的 α -1,4糖苷键水解,产生葡萄糖、麦芽糖以及糊精等,碘可以与未被水解的淀粉结合,生成在570nm下有特征吸收峰的复合物,其深浅可计算出淀粉酶的活力单位。

α -AL耐热,但是 β -淀粉酶可在70°C钝化15min。因此粗酶液经过70°C钝化15min,就只有 α -AL能够催化淀粉水解。



注意:实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品组成:

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	粉剂×1瓶	2-8°C
试剂二	液体10mL×1瓶	2-8°C
试剂三	液体30mL×1瓶	2-8°C
标准品	粉剂×1瓶	2-8°C

溶液的配制:

1. 试剂一:临用前加入6.25mL试剂三,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°C保存8周;
2. 标准品:10mg淀粉标准品。临用前加10mL试剂三,置沸水浴中振荡溶解,配成1mg/mL淀粉标准液,2-8°C保存四周。

需自备的仪器和用品:

酶标仪/可见分光光度计、恒温水浴锅、台式离心机、可调式移液器、96孔板/微量玻璃比色皿、研钵/匀浆器、蒸馏水。

操作步骤:

一、样本处理(可适当调整待测样本量,具体比例可以参考文献)

1. 组织:称取约0.1g样本,加1mL蒸馏水匀浆;匀浆后在室温下放置提取15min,每隔5min振荡1次,使其充分提取;6000g,室温离心10min,吸取上清液即为淀粉酶原液。
2. 液体:直接检测。(若有浑浊则离心后进行测定)

二、测定步骤

1. 分光光度计/酶标仪预热30min以上,调节波长到570nm,分光光度计蒸馏水调零。
2. 将淀粉标准液用蒸馏水稀释为0.4、0.2、0.1、0.05、0.025、0.0125、0.00625mg/mL的标准溶液。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话:400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ:807961520 731791866

邮箱:zzlybio@126.com

序号	稀释前浓度 (mg/mL)	标准液体积 (μL)	稀释后浓度 (mg/mL)	稀释后浓度 (mg/mL)
1	1	200	300	0.4
2	0.4	200	200	0.2
3	0.2	200	200	0.1
4	0.1	200	200	0.05
5	0.05	200	200	0.025
6	0.025	200	200	0.0125
7	0.0125	200	200	0.00625

3. 实验中每个标准管需100μL标准溶液。

4. 按操作表依次加入各试剂:

试剂 (μL)	测定管	对照管	空白管	标准管	标准空白管
α-淀粉酶原液	100	100	-	-	-
蒸馏水	-	-	100	-	100
标准溶液	-	-	-	100	-
70°C水浴15min左右, 冷却					
试剂一	100	-	100	-	-
蒸馏水	-	100	-	100	100
试剂二	50	50	50	50	50

混匀后吸取200 μL于微量玻璃比色皿或者96孔板中读取测定管、对照管、空白管、标准管、标准空白管570nm下的吸光度, 分别记为A测定、A对照、A空白、A标准和A标准空白, 计算 ΔA测定=A空白-(A测定-A对照), ΔA标准=A标准-A标准空白。标准曲线和标准空白管只需做1-2次。

三、α-淀粉酶活性计算

1. 标准曲线的绘制:

根据标准管的浓度 (x, mg/mL) 和吸光度ΔA标准 (y, ΔA标准), 建立标准曲线。根据标准曲线, 将ΔA测定 (y, ΔA测定) 带入公式计算样本浓度 (x, mg/mL)。

2. α-淀粉酶活性计算

(1) 按照样本质量计算

单位定义: 每g组织每分钟消耗1mg淀粉定义为1个酶活力单位。

α-淀粉酶活性 (U/g 质量) = $x \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.1 \times x \div W$

(2) 按照蛋白质浓度计算

单位定义: 每mg组织蛋白每分钟消耗1mg淀粉定义为1个酶活性单位。

α-淀粉酶活性 (U/mg prot) = $x \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 0.1 \times x \div C_{\text{pr}}$

(3) 按照液体体积计算

单位定义: 每mL液体每分钟消耗1mg淀粉定义为1个酶活性单位。

α-淀粉酶活性 (U/mL) = $x \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} \div T = 0.1 \times x$

V样: 加入反应体系中样本体积, 0.1mL; V样总: 样本总体积, 1mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, g; T: 反应时间, 10min。

注意事项:

1. 吸光值大于1.5或者ΔA大于0.8时, 可以对样本进行适当稀释后测定。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com