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 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。