

β-淀粉酶 (β-AL) 活性检测试剂盒 (微量法)

产品货号: BA1026

产品规格: 100管/48样

产品内容:

试剂一: 液体35mL×1瓶, 常温保存, 若有黄色晶体析出, 需加热溶解后再用;

试剂二: 粉剂×1瓶, 4℃保存。临用前加入20mL蒸馏水, 置于常温水浴中并加热至煮沸, 期间不断搅拌粉至溶解。

标准品: 粉剂×1支, 10mg无水葡萄糖。

产品说明:

淀粉酶负责水解淀粉, 主要包括α-淀粉酶和β-淀粉酶。β-淀粉酶(EC 3.2.1.2) 从淀粉的非还原端切开α-1,4 糖苷键, 生成葡萄糖、麦芽糖、麦芽三糖、糊精等还原糖。

还原糖还原 3,5-二硝基水杨酸生成棕红色物质。α-淀粉酶不耐酸, β-淀粉酶不耐热。根据上述特性, 钝化其中之一, 就可测出另一种淀粉酶的活力。

需自备的仪器和用品:

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

操作步骤:

一、粗酶液提取:

称取约0.1g样本, 加入0.8mL蒸馏水, 研磨匀浆; 将匀浆倒入离心管中, 提取液在室温下放置提取15min, 每5min振荡1次, 使其充分提取; 6000g, 常温离心10min, 取上清液加蒸馏水定容至10mL, 摇匀, 即淀粉酶原液。

吸取上述淀粉酶原液1mL, 加入4mL双蒸水, 摇匀, 即为淀粉酶稀释液, 用于(α+β)淀粉酶总活力的测定。

二、测定操作表:

- 1、可见分光光度计/酶标仪预热30min以上, 调节波长至540nm, 蒸馏水调零。
- 2、将葡萄糖标准液稀释为1、0.5、0.25、0.1325、0.0625、0.03425、0.015625、0.0078 和0.0039mg/mL的标准溶液。
- 3、按操作表依次加入各试剂:

试剂名称 (μL)	α-淀粉酶活力测定		总淀粉酶活力测定		标准曲线的测定	
	对照管	测定管	对照管	测定管	空白管	标准管
淀粉酶原液	75	75			-	-
蒸馏水					-	75
标准溶液					75	-
70℃水浴15min左右, 冷却						
淀粉酶稀释液			75	75	-	-
试剂一					-	-
试剂二		75		75		
在40℃恒温水浴中准确保温5min						
试剂一	150	150	150	150	150	150



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719779

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: shsunbao@126.com

http://www.saint-bio.com

试剂二	75	0	75		75	75
混匀，90℃水浴10min，在200 μL至96孔板或微量玻璃比色皿中，在540nm下测定吸光度，从左到右分别记为A1、A2、A3、A4、A5和A6，计算 $\Delta A_{\alpha} = A2 - A1$ ， $\Delta A_{总} = A4 - A3$ ， $\Delta A_{标准} = A6 - A5$ 。						

酶活性计算：

1、标准曲线的绘制

以 ΔA 标准为y轴，以标准溶液浓度为x轴，绘制标准曲线，得到方程 $y=kx+b$ 。将 ΔA_{α} 测定带入方程得到 x_1 (mg/mL)， $\Delta A_{总}$ 代入方程得到 x_2 (mg/mL)。

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。

$$\alpha\text{-淀粉酶活性(mg/g鲜重)} = x_1 \times V_{样} \div (W \times V_{样} \div V_{样总}) \div T = 2 \times x_1 \div W$$

(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。

$$\alpha\text{-淀粉酶活性(mg/mg prot)} = x_1 \times V_{样} \div (V_{样} \times C_{pr}) \div T = 0.2 \times x_1 \div C_{pr}$$

3、总淀粉酶活性计算

(1) 按照样品质量计算

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。

$$\text{总淀粉酶活性(mg/g鲜重)} = 5 \times x_2 \times V_{样} \div (W \times V_{样} \div V_{样总}) \div T = 10 \times x_2 \div W$$

(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个酶活力单位。

$$\text{总淀粉酶活性(U/mg prot)} = 5 \times x_2 \times V_{样} \div (V_{样} \times C_{pr}) \div T = x_2 \div C_{pr}$$

4、 β -淀粉酶活性计算

(1) 按照样品质量计算

单位定义：每g组织在反应体系中每分钟催化产生1mg还原糖定义为1个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \beta\text{-淀粉酶活性(U/g鲜重)} &= \text{淀粉酶总活性} - \alpha\text{-淀粉酶活性} = (10 \times x_2 \div W) - (2 \times x_1 \div W) \\ &= (10 \times x_2 - 2 \times x_1) \div W \end{aligned}$$

(2) 按照蛋白质含量计算

单位定义：每mg组织蛋白在反应体系中每分钟催化产生1mg还原糖定义为1个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \beta\text{-淀粉酶活性(U/mg prot)} &= \text{淀粉酶总活性} - \alpha\text{-淀粉酶活性} \\ &= (x_2 \div C_{pr}) - (0.2 \times x_1 \div C_{pr}) \end{aligned}$$

5、总淀粉酶稀释倍数:V样：加入反应体系中样本体积，0.075mL；V样总：提取液总体积，10mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；T：反应时间，5min。

注意事项：

测定的吸光值大于1.5时，可以对样本进行适当稀释后测定。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719779

QQ：807961520 731791866

邮箱：shsunbao@126.com

http://www.saint-bio.com