

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号: E-BC-K007-M

产品规格: 96T(40 samples)

检测仪器: 酶标仪(535-540 nm)

## Elabscience® $\alpha$ -淀粉酶比色法测试盒

### $\alpha$ -Amylase Activity Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话: 400-999-2100

邮箱: [biochemical@elabscience.cn](mailto:biochemical@elabscience.cn)

网址: [www.elabscience.cn](http://www.elabscience.cn)

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

## 用途

本试剂盒适用于检测血清、唾液、植物、动物组织样本中的  $\alpha$ -淀粉酶活力。

## 检测原理

还原糖与 3, 5-二硝基水杨酸在加热条件下反应, 生成棕红色物质, 利用  $\beta$ -淀粉酶不耐热的特性, 将其钝化, 然后测定  $\alpha$ -淀粉酶的酶活。

本试剂盒检测组织样本时, 需要测定总蛋白浓度, 推荐使用 BCA 法(货号: E-BC-K318-M)。

## 提供试剂和物品

编号	名称	规格 (Size)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	底物 (Substrate)	10 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 12 个月
试剂二 (Reagent 2)	显色剂 (Chromogenic Agent)	20 mL×1 瓶	2-8℃ 避光 保存 12 个月
试剂三 (Reagent 3)	10 mg/mL 标准品 (10 mg/mL Standard)	1.5 mL×1 支	2-8℃ 保存 12 个月
	96 孔酶标板	1 板	
	96 孔覆膜	2 张	
	样本位置标记表	1 张	

说明: 试剂严格按上表中的保存条件保存, 不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂, 使用前请先离心, 以免量取不到足够量的试剂。

## 所需自备物品

仪器：酶标仪(535-540 nm，最佳检测波长 540 nm)，恒温水浴锅(95 ℃)

## 试剂准备

- ① 检测前，试剂盒中的试剂一、二、三平衡至室温。
- ② 样本检测前，试剂一、二40 ℃预热10 min，试剂二如果有固体析出，需70-80℃水浴加热溶解，流水冷却至40℃后待用。
- ③ 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度(mg/mL)	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0	1.2	1.4
10 mg/mL 标准品(μL)	0	20	40	60	80	100	120	140
双蒸水(μL)	1000	980	960	940	920	900	880	860

## 样本准备

### ① 样本处理

血清、唾液等液体样本：直接检测。

组织样本：称取 0.1 g 组织样本，加入 0.9 mL 双蒸水，研磨匀浆(也可机械匀浆)，收集匀浆液至离心管中，匀浆液在室温下放置提取 15 min，每 5 min 振荡一次(10 s)，使其充分提取，提取完成后，室温条件下， $3000 \times g$ ，离心 10 min，取上清加双蒸水定容至 10 mL，混匀，待测。

### ② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.0097-0.3474 U/mL，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
1%青椒	不稀释	1%玉米粒	不稀释
1%绿萝	不稀释	1%胡萝卜	不稀释

注：稀释液为双蒸水。

## 实验关键点

- ① 试剂一中若有沉淀析出，需 70-80 °C 加热溶解后，冷却至 40°C 待用。
- ② 试剂二中若有黄色固体析出，需 70-80 °C 加热溶解后，冷却至 40°C 待用。
- ③ 显色完成后，若有沉淀，可室温条件下  $4000 \times g$  离心 5 min，取上清测定。
- ④ 当绝对 OD 值大于 0.747 时，需要适当稀释。

## 操作步骤

### 标准曲线部分

- ① 取 16 个 1.5 mL 的 EP 管，并编号 A-H，每个编号两管，分别取 75  $\mu\text{L}$  不同浓度标准品，加入到对应的标准管中。
- ② 向①中各标准管加入 75  $\mu\text{L}$  试剂一。
- ③ 向②中各标准管加入 150  $\mu\text{L}$  试剂二。
- ④ 混匀 3 s，95  $^{\circ}\text{C}$  水浴 5 min，流水冷却后，取 250  $\mu\text{L}$  到酶标板中，酶标仪 540 nm 处，测定各孔 OD 值。

### 样本部分

- ① 对照管、测定管：取 75  $\mu\text{L}$  待测样本加入到对照管、测定管中。
- ② 70  $^{\circ}\text{C}$  水浴 15 min，流水冷却。
- ③ 对照管：向②中对照管加入 75  $\mu\text{L}$  双蒸水。  
测定管：向②中测定管加入 75  $\mu\text{L}$  试剂一。
- ④ 40  $^{\circ}\text{C}$  反应 5 min。
- ⑤ 向④中各管加入 150  $\mu\text{L}$  试剂二。
- ⑥ 混匀 3 s，95  $^{\circ}\text{C}$  水浴 5 min，流水冷却后，取 250  $\mu\text{L}$  到酶标板中，酶标仪 540 nm 处，测定各孔 OD 值。

## 操作表

### 标曲操作表

	标准管
不同浓度标准品( $\mu\text{L}$ )	75
试剂一( $\mu\text{L}$ )	75
试剂二( $\mu\text{L}$ )	150
混匀 3 s, 95 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 5 min, 流水冷却后, 取 250 $\mu\text{L}$ 到酶标板中, 酶标仪 540 nm 处, 测定各孔 OD 值。	

### 样本操作表

	对照管	测定管
待测样本( $\mu\text{L}$ )	75	75
70 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 15 min, 流水冷却		
双蒸水( $\mu\text{L}$ )	75	--
试剂一( $\mu\text{L}$ )	--	75
40 $^{\circ}\text{C}$ 准确反应 5 min		
试剂二( $\mu\text{L}$ )	150	150
混匀 3 s 后, 95 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 5 min, 流水冷却后, 取 250 $\mu\text{L}$ 到酶标板中, 酶标仪 540 nm 处, 测各孔 OD 值。		

本试剂盒检测组织样本时, 需测定总蛋白浓度, 推荐使用 BCA 法(货号: E-BC-K318-M)。

## 结果计算

标准品拟合曲线:  $y = ax + b$

血清、唾液样本的结果计算:

定义: 每毫升血清、唾液每分钟催化产生 1 mg 还原糖为 1 个酶活单位。

$$\alpha\text{-淀粉酶活力} \quad (\text{U/mL}) = (\Delta A - b) \div a \times V_3 \div t \div V_2 \times f$$

组织样本的结果计算:

定义: 每克组织每分钟催化产生 1 mg 还原糖为 1 个酶活单位。

$$\alpha\text{-淀粉酶活力} \quad (\text{U/g 组织}) = (\Delta A - b) \div a \times V_3 \div t \div w \times \frac{V_1}{V_2} \times f$$

或者定义: 每毫克组织蛋白每分钟催化产生 1 mg 还原糖为 1 个酶活单位

$$\alpha\text{-淀粉酶活力} \quad (\text{U/mgprot}) = (\Delta A - b) \div a \times V_3 \div t \div V_2 \times f \div C_{pr}$$

**注解:**

y: 标准品 OD 值-空白 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x: OD 值对应的浓度

a: 标准曲线斜率

b: 标准曲线截距

$\Delta A$ : 样本测定 OD 值-对照 OD 值

$V_3$ : 酶促反应体积(0.15 mL)

$V_2$ : 加入反应体系中的样本体积(0.075 mL)

$V_1$ : 组织样本制备的体积(10 mL)

t: 酶促反应时间(5 min)

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

w: 样本制备时所需的样本质量(0.1 g)

$C_{pr}$ : 样本加入检测体系前的蛋白浓度(mgprot/mL)

## 附录1 关键数据

### 1. 技术参数

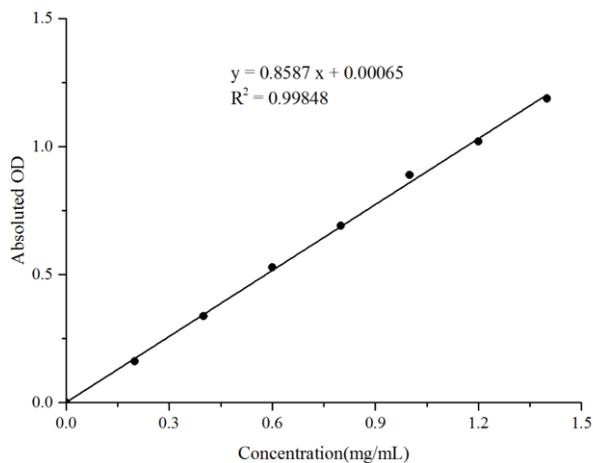
检测范围	0.0097-0.3474 U/mL	平均批间差	3.9 %
灵敏度	0.0097 U/mL	平均批内差	3 %
平均回收率	98 %		

### 2. 标准曲线(数据仅供参考)

①标准品浓度测定数据:

标准品浓度 (mg/mL)	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0	1.2	1.4
OD 值	0.139	0.310	0.465	0.668	0.839	1.018	1.142	1.339
	0.140	0.292	0.489	0.669	0.821	1.040	1.176	1.317
平均 OD 值	0.140	0.301	0.477	0.668	0.830	1.029	1.159	1.328
绝对 OD 值	0.000	0.161	0.338	0.529	0.690	0.889	1.019	1.188

②绘制标曲(如下图):



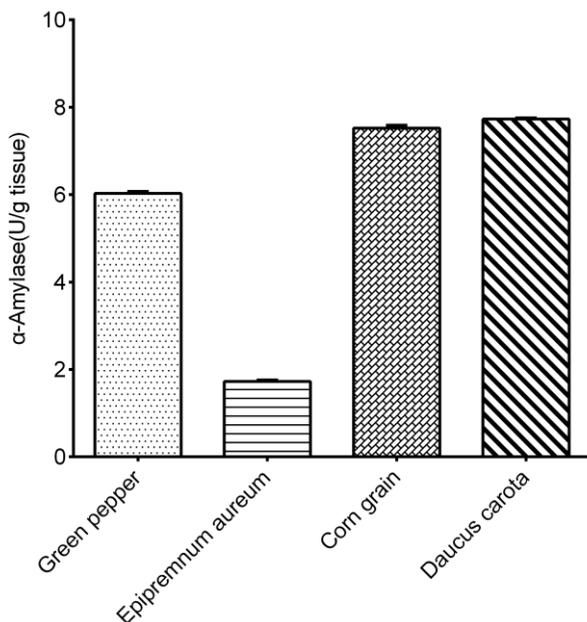
## 附录2 实例分析

例如检测青椒(数据仅供参考):

取0.1g青椒,按样本处理部分制备,之后按照说明书操作,结果如下:  
标准曲线:  $y = 0.8729x - 0.0112$ , 测定孔平均OD值为0.368, 对照孔平均OD  
值为0.247, 计算结果为:

$$\alpha\text{-淀粉酶活力} = (0.368 - 0.247 + 0.0112) \div 0.8729 \times 0.15 \div 5 \div 0.1 \times 10 \div 0.075 = 6.06 \text{ U/g 组织} \\ (\text{U/g 组织})$$

按照说明书操作,测定1%青椒(加样量75  $\mu\text{L}$ )、1%绿萝(加样量75  $\mu\text{L}$ )、  
1%玉米粒(加样量75  $\mu\text{L}$ )和1%胡萝卜(加样量75  $\mu\text{L}$ )中 $\alpha$ -淀粉酶活力含量(如下  
图):



### 附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
绝对 OD 值低	OD 值太高	按照标准品稀释表重新稀释标准品
	样本值低	按照计算公式进行计算
样本测不出值	样本稀释倍数太大	选择合适稀释倍数,重新检测
	样本保存时间过长或者保存不当	取新鲜样本,重新检测
样本测量结果 >0.56 U/mL	样本浓度太高	选择合适稀释倍数,重新检测

#### 声明

1. 试剂盒仅供研究使用,如将其用于临床诊断或任何其他用途,我公司将不对因此产生的问题负责,亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器,严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低,请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中,建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责,不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责,使用前请充分考虑样本可能的使用量,预留充足的样本。

## 附录4 客户发表文献

1. Yuni Hong, Yun-Hyeok Choi, Young-Eun Han, et al. Central Administration of Ampelopsin A Isolated from *Vitis vinifera* Ameliorates Cognitive and Memory Function in a Scopolamine-Induced Dementia Model[J]. *Antioxidants-Basel*. 2021 Jun; 10(6):835. IF:6.312
2. Li Q, R Cebrián, M Montalbán-López, et al. Outer-membrane-acting peptides and lipid II-targeting antibiotics cooperatively kill Gram-negative pathogens[J]. *Communications Biology*, 2021, 4(1). IF:6.268
3. Naseh A, Shirin B, Maryam M, et al. Attenuation of chronic arsenic neurotoxicity via melatonin in male offspring of maternal rats exposed to arsenic during conception: Involvement of oxidative DNA damage and inflammatory signaling cascades[J]. *Life Sciences* 266 (2021) 118876. IF:5.037
4. Baek S Y, Li F Y, Kim D H, et al. Enteromorpha prolifera extract improves memory in scopolamine-treated mice via downregulating amyloid- $\beta$  expression and upregulating BDNF/TrkB pathway[J]. *Antioxidants*, 2020, 9(7): 620. IF:5.014
5. Aydinoglu F, Ad?belli E?, Y?lmaz-Oral D, Ogulener N. Involvement of RhoA/Rho-kinase in l-cysteine/H2S pathway-induced inhibition of agonist-mediated corpus cavernosal smooth muscle contraction. *Nitric Oxide*. 2019;85:54 欵?60. IF:3.371
6. Cui Y, Wang Y, Liu G. Protective Effect of Barbaloin in a Rat Model of Myocardial Ischemia Reperfusion Injury Through the Regulation of the CNPY2?PERK Pathway[J]. *International Journal of Molecular Medicine*, 2019. IF:2.928
7. Altaf S, Muhammad F, Aslam B, et al. Cell membrane enveloped polymeric nanosponge for detoxification of chlorpyrifos poison: In vitro and in vivo studies[J]. *Human & Experimental Toxicology*, 2021, 40(8):1286-1295. IF:2.903
8. Song Q Q, NIN J P, Zhang S Y, et al. Effects of Simulated Heat Wave and Ozone on High Fat Diet ApoE Deficient Mice[J]. *Biomedical and Environmental Sciences*, 2018, 31(10): 757-768. IF:2.518
9. Wang L, Yang Y, Cui Q, et al. Evaluating the added predictive ability of MMP-9 in serum for Kawasaki disease with coronary artery lesions[J]. *Journal of Investigative Medicine*, 2020. IF:2.304

10. Yilmaz-Oral D, Kaya-Sezginer E, Oztekin C V, et al. Evaluation of combined therapeutic effects of hydrogen sulfide donor sodium hydrogen sulfide and phosphodiesterase type-5 inhibitor tadalafil on erectile dysfunction in a partially bladder outlet obstructed rat model[J]. *Neurourology and Urodynamics*, 2020, 39(4): 1087-1097. IF:2.037
11. Yilmaz E, Kaya-Sezginer E, Yilmaz-Oral D, et al. Effects of Hydrogen Sulphide Donor, Sodium Hydrosulphide Treatment on the Erectile Dysfunction in L-NAME-induced Hypertensive Rats[J]. *Andrologia*, 2019. IF:1.84
12. Tian J, Wang L, Hui S, et al. Cadmium accumulation regulated by a rice heavy-metal importer is harmful for host plant and leaf bacteria. *J Adv Res*. 2022.