

(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-K041-M

产品规格：96T(40 samples)

检测仪器：酶标仪(500-520 nm)

Elabscience®麦芽糖酶比色法测试盒

Maltase 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

网址：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动物组织中麦芽糖酶活力。

检测原理

麦芽糖酶作用于底物产生单糖，该单糖在其氧化酶的作用下产生氧化物质，氧化物质同显色剂结合产生红色的产物，测定红色产物 OD 值，从而计算出麦芽糖酶的活性。

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)	粉剂×1 瓶	2-8℃ 保存 12 个月
试剂二 (Reagent 2)	缓冲液 (Buffer Solution)	8 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 12 个月
试剂三 (Reagent 3)	终止液 (Stop Solution)	3.5 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 12 个月
试剂四 (Reagent 4)	显色剂 A (Chromogenic Agent A)	13 mL×1 瓶	2-8℃避光 保存 12 个月
试剂五 (Reagent 5)	显色剂 B (Chromogenic Agent B)	13 mL×1 瓶	2-8℃避光 保存 12 个月
试剂六 (Reagent 6)	50 mmol/L 葡萄糖标准品 (50 mmol/L Glucose Standard Solution)	1 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(500-520 nm, 最佳检测波长 505 nm)。

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温。

② 试剂一工作液的配制：

一瓶试剂一用6 mL试剂二溶解，2-8 ℃保存一个月。

③ 显色剂工作液的配制

按试剂四：试剂五=1：1的体积比混，现用现配，按需配制。

④ 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(mmol/L)	0	2.5	5	10	15	20	25	30
50 mmol/L 标准品(μL)	0	20	40	80	120	160	200	240
双蒸水(μL)	400	380	360	320	280	240	200	160

样本准备

① 样本处理

组织样本：组织处理的匀浆介质为 PBS (0.01 M, pH 7.4)。匀浆后，4°C，10000 ×g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。留取部分上清用于蛋白浓度测定。

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：6.32-750 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
10%小鼠心脏组织	不稀释	10%小鼠小肠组织	不稀释
10%大鼠肝脏组织	不稀释	10%小鼠肾脏组织	不稀释
10%大鼠脾脏组织	不稀释	10%小鼠脑组织	不稀释

注：稀释液为生理盐水(0.9%)或 PBS (0.01 M, pH 7.4)。

实验关键点

若测定孔 OD 值大于 1，需将样本稀释后再测定。

操作步骤

标曲部分

- ① 取 16 个 1.5 mL 的 EP 管，并编号 A-H，每个编号两管，分别取 25 μ L 不同浓度标准品，加入到对应的标准管中。
- ② 向①中各管加入 50 μ L 试剂一工作液。
- ③ 向②中各管加入 25 μ L 试剂三。
- ④ 涡旋混匀 3 s，取③中各管溶液 8 μ L，触板底加入到酶标板中。
- ⑤ 向④中各孔加入 200 μ L 显色剂工作液。
- ⑥ 酶标仪振板 5 s，37 $^{\circ}$ C 孵育 15 min，酶标仪 505 nm 处，测定各孔 OD 值。

样本部分

- ① 测定管：取 25 μ L 待测样本、50 μ L 试剂一工作液加入到 1.5 mL EP 管中；
对照管：取 50 μ L 试剂一工作液加入到 1.5 mL EP 管中。
- ② 涡旋混匀 3 s，37 $^{\circ}$ C 准确反应 20 min。
- ③ 向②中各管加入 25 μ L 试剂三。
- ④ 向③中的对照管加入 25 μ L 待测样本。
- ⑤ 涡旋混匀 3 s，3000 \times g 离心 10 min，取 8 μ L 上清液，触板底加入到酶标板中。
- ⑥ 向⑤中各孔加入 200 μ L 显色剂工作液。
- ⑦ 酶标仪振板 5 s，37 $^{\circ}$ C 孵育 15 min，酶标仪 505 nm 处，测定各孔 OD 值。

操作表

标准曲线

	标准管
不同浓度标准品(μL)	25
试剂一工作液(μL)	50
试剂三(μL)	25
涡旋混匀 3 s, 取 8 μL 溶液触板底加入到酶标板中	
显色剂工作液(μL)	200
酶标仪振板 5 s, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 15 min, 酶标仪 505 nm 处, 测定各孔 OD 值。	

样本测定

	对照管	测定管
待测样本(μL)		25
试剂一工作液(μL)	50	50
涡旋混匀 3 s, 37 $^{\circ}\text{C}$ 准确反应 20 min		
试剂三(μL)	25	25
待测样本(μL)	25	
涡旋混匀 3 s, 3000 $\times\text{g}$ 离心 10 min, 取 8 μL 上清液, 触板底加入到酶标板中。		
显色剂工作液(μL)	200	200
酶标仪振板 5 s, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 15 min, 酶标仪 505 nm 处, 测定各孔 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： $y = ax + b$

定义：在 37 ℃，pH=6.0 条件下，每毫克蛋白每分钟水解 1 nmol 麦芽糖定义为一个酶活单位。

$$\text{麦芽糖酶活力 (U/mgprot)} = (\Delta A_{505} - b) \div a \div 2^* \div t \div C_{pr} \times 1000$$

注解：

y: 标准品 OD 值-空白 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x: 吸光度对应的浓度

a: 标曲斜率

b: 标曲截距

ΔA_{505} : 样本测定 OD 值-对照 OD 值

*: 一个麦芽糖能分解成 2 个葡萄糖

t: 酶促反应时间(20 min)

C_{pr} : 样本加入检测体系时的蛋白浓度(mgprot/mL)

1000: 单位换算, 1 mmol/L=1000 nmol/mL

附录1 关键数据

1. 技术参数

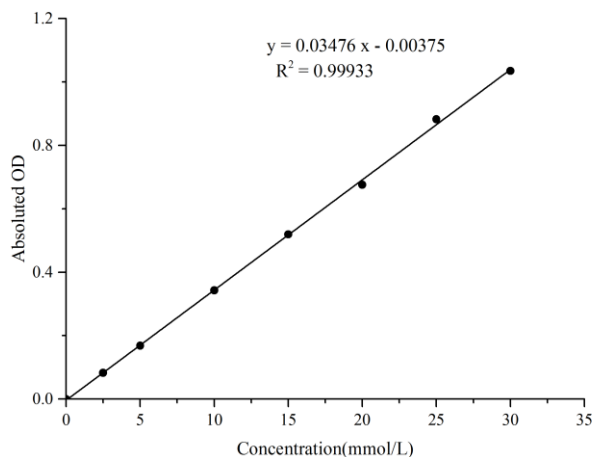
检测范围	6.32-750 U/mL	平均批间差	5.7 %
灵敏度	6.32 U/mL	平均批内差	2.7 %
平均回收率	103 %		

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 (mmol/L)	0	2.5	5	10	15	20	25	30
OD 值	0.153	0.235	0.321	0.496	0.680	0.833	1.042	1.188
	0.154	0.236	0.322	0.496	0.665	0.825	1.029	1.188
平均 OD 值	0.154	0.236	0.322	0.496	0.672	0.829	1.036	1.188
绝对 OD 值	0	0.082	0.168	0.342	0.518	0.675	0.882	1.034

② 绘制标曲(如下图):



附录2 实例分析

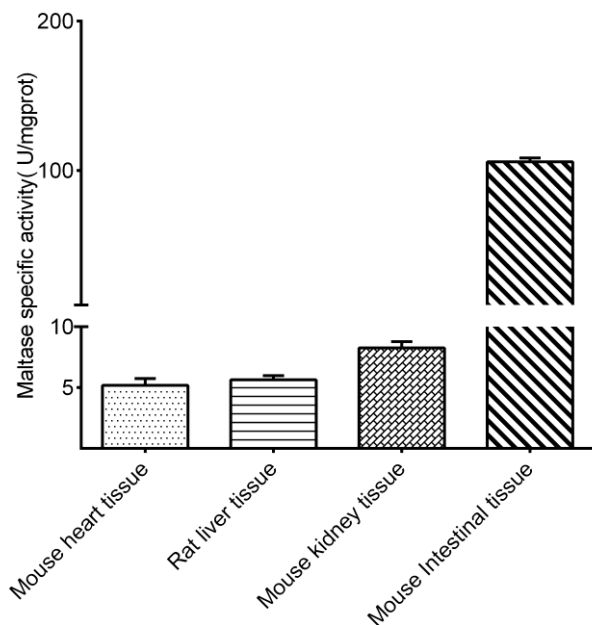
例如检测小鼠肠道组织(数据仅供参考):

取新鲜制备的10%小鼠肠道组织匀浆,按照说明书操作,结果如下:

标准曲线: $y = 0.0356x - 0.0009$; 测定孔平均OD值为0.900, 对照孔平均OD值为0.162, 10%小鼠肠道组织匀浆蛋白浓度为4.56 mgprot/mL, 计算结果如下:

$$\text{麦芽糖酶活力 (U/mgprot)} = (0.900 - 0.162 + 0.0009) \div 0.0356 \div 2 \div 20 \div 4.56 \times 1000 = 113.79 \text{ U/mgprot}$$

按照说明书操作,测定小鼠心脏组织(10%组织匀浆的蛋白含量5.17 mgprot/mL, 加样量25 μ L)、大鼠肝脏组织(10%组织匀浆的蛋白含量10.91 mgprot/mL, 加样量25 μ L)、小鼠肾脏组织(10%组织匀浆的蛋白含量7.96 mgprot/mL, 加样量25 μ L)和小鼠小肠组织(10%组织匀浆的蛋白含量4.56 mgprot/mL, 加样量25 μ L)中的麦芽糖酶活力(如下图):



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
复孔差异大	吸取到微板中时,引入了杂质	小心吸取上清,避免吸取到杂质
样本测不出值	样本稀释倍数太大,或者样本值低	减小稀释倍数、升高样本检测液制备过程中的组织浓度,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

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. Mu X, Xiang Z, Xu Y, et al. Glucose metabolism controls human $\gamma\delta$ T-cell-mediated tumor immunosurveillance in diabetes[J]. Cellular & Molecular Immunology. IF:22.096
2. Tseng S.Ja. An acid degradable, lactate oxidizing nanoparticle formulation for non-small cell lung cancer virotherapy[J]. Nano Today. IF:18.962
3. Zhang H, Zheng Q, Guo T, et al. Metabolic reprogramming in astrocytes results in neuronal dysfunction in intellectual disability. Mol Psychiatry. 2022. IF:15.992
4. Salman T M, Iyanda M A, Alli-Oluwafuyi A M, et al. Telfairia occidentalis stimulates hepatic glycolysis and pyruvate production via insulin-dependent and insulin-independent mechanisms[J]. Metabolism Open, 2021, 10(1-10):100092. IF:8.694
5. Li Q, Peng J, Luo Y, et al. Far infrared light irradiation enhances A β clearance via increased exocytotic microglial ATP and ameliorates cognitive deficit in Alzheimer's disease-like mice. J Neuroinflammation. 2022; 19 (1):145. IF:7.573
6. Zeng X Peng, Wang L J, Guo L H, et al. Dasatinib ameliorates chronic pancreatitis induced by caerulein via anti- fibrotic and anti-inflammatory mechanism[J]. Pharmacological Research, 2019, 147, 104357. IF:5.574
7. Daily Dose of Bovine Lactoferrin Prevents Ethanol-Induced Liver Injury and Death in Male Mice by Regulating Hepatic Alcohol Metabolism and Modulating Gut Microbiota[J]. Molecular Nutrition & Food Research. IF:5.426
8. Wang Y, Xie W, Feng Y, et al. Epithelial-derived exosomes promote M2 macrophage polarization via Notch2/SOCS1 during mechanical ventilation. Int J Mol Med. 2022; 50 (1). IF:5.314
9. Yu C, Wang D, Tong Y, et al. Trans -Anethole Alleviates Subclinical Necro-Haemorrhagic Enteritis-Induced Intestinal Barrier Dysfunction and Intestinal Inflammation in Broilers. Front Microbiol. 2022; 13:831882. IF:5.259
10. Xu Y , Zhang Y , Xu Y , et al. Activation of CD137 signaling promotes macrophage apoptosis dependent on p38 MAPK pathway-mediated mitochondrial fission[J]. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 2021 Jul; 136:106003. IF:5.085
11. 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

12. Zhong J, Sun P, Xu N, et al. Canagliflozin inhibits p-gp function and early autophagy and improves the sensitivity to the antitumor effect of doxorubicin[J]. *Biochemical Pharmacology*, 2020, 175: 113856. IF:4.96
13. Wang L J, He L, Hao L, et al. Isoliquiritigenin ameliorates caerulein-induced chronic pancreatitis by inhibiting the activation of PSCs and pancreatic infiltration of macrophages[J]. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2020. IF:4.486
14. Laurian R, Ravent J, Dementhon K, et al. *Candida albicans* Hexokinase 2 Challenges the *Saccharomyces cerevisiae* Moonlight Protein Model[J]. *Microorganisms*, 2021, 9(4):848. IF:4.128
15. Liu J, Duan P, Xu C Y, et al. CircRNA circ-ITCH improves renal inflammation and fibrosis in streptozotocin-induced diabetic mice by regulating the miR-33a-5p/SIRT6 axis[J]. *Inflammation Research*, 2021. IF:4.114
16. Yu H, Zhang L, Chen P, et al. Dietary bile acids enhance growth, and alleviate hepatic fibrosis induced by a high starch diet via AKT/FOXO1 and cAMP/AMPK/SREBP1 pathway in *Micropterus salmoides*[J]. *Frontiers in Physiology*, 2019, 10. IF:3.367
17. Sohini Sen, Shaunak Ghosh, Sayantan De, et al. Immunomodulatory and antimicrobial non-mulberry *Antheraea mylitta* silk fibroin accelerates in vitro fibroblast repair and regeneration by protecting oxidative stress[J]. *RSC Advances*, 2021 May; 11(31):19265-19282. IF:3.361
18. Li Jianda, Yuan Chen, Liu Peng et al. Red blood cells serve as a vehicle for PEDV transmission.[J]. *Vet Microbiol*, 2021, 257: 109081. IF:3.293
19. Ali A, Elsherbiny D, Azab S, et al. The diuretic amiloride attenuates doxorubicin-induced chemobrain in rats: Behavioral and mechanistic study[J]. *Neurotoxicology*, 2021, 88:1-13. IF:3.088
20. Yang H, Gan S, Jiang Z, et al. Protective effects of essential oil from *Fructus Alpiniae zerumbet* on retinal Müller gliosis via the PPAR- γ -p-CREB signaling pathway[J]. *Chinese Medicine*, 2020, 15(1): 4. IF:2.96
21. Chen Wenqi, Li Yuehua, Zhong Jing et al. circ-PRKCI targets miR-1294 and miR-186-5p by downregulating FOXK1 expression to suppress glycolysis in hepatocellular carcinoma.[J]. *Mol Med Rep*, 2021, 23: undefined. IF:2.952
22. 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 \uparrow PERK Pathway[J]. *International Journal of Molecular Medicine*, 2019. IF:2.928