

α -淀粉酶抑制剂筛选/抑制剂活性试剂盒（微量法）

货号：PMK1955BKM

保存：-20℃保存 6 个月

规格：48T/24S 96T/48S

适用样本：植物组织、药物、细菌、发酵液等液体样本

产品简介

α -淀粉酶催化淀粉中 α -1,4-糖苷键水解，生成麦芽糖、麦芽三糖等低聚糖。在人体中，这些低聚糖进一步被 α -葡萄糖苷酶分解为葡萄糖，导致餐后血糖升高。 α -淀粉酶抑制剂（ α -amylase inhibitor, α -AI）能有效抑制胃肠道 α -淀粉酶活性，延缓碳水化合物消化，减少葡萄糖生成与吸收，从而平稳餐后血糖峰值，在糖尿病防治及体重管理领域具有重要应用价值。本试剂盒提供了一种简单的比色法来检测生物样本对 α -淀粉酶的抑制效果，或称抑制剂活性，其原理是 α -淀粉酶催化淀粉水解生成还原糖，还原糖还原 3,5-二硝基水杨酸生成棕红色物质，在 540nm 有吸收峰；540nm 吸光度增加速率与淀粉酶活性成正比。加入代测抑制剂后，与酶结合，导致酶活性受阻，还原糖生成速率降低。通过比较总酶活孔（空白，无抑制）与测定孔（含抑制剂）的吸光度，即可计算 α -淀粉酶抑制率，判断样品抑制活性水平。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃
反应缓冲液	10mL	20mL	4℃
酶制剂	40 μ L	80 μ L	-20℃保存
底物	粉剂 $\times$ 1 瓶	粉剂 $\times$ 2 瓶	4℃
DNS 试剂	20mL	40mL	室温避光保存
阳性对照（5mmol/L 阿卡波糖）	1mL	1mL	-20℃避光保存

自备耗材

酶标仪或可见光分光光度计（能测 540nm 处的吸光度）

水浴锅、离心机

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

去离子水

匀浆器或研磨仪（如果是组织样本）

试剂准备

注意：小管试剂开盖前，请先低速离心。

提取液：即用型悬浊液，使用前需摇匀，平衡到室温；4℃保存。

反应缓冲液：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

酶制剂：使用时，用反应缓冲液进行 1:20 稀释，整个实验过程中，冰上避光放置。现用现配，用多少配多少；保存于-20℃。

底物：临用前每瓶加入 10 mL 去离子水，上下颠倒摇晃几次，加热至溶解。溶解后的底物 4℃保存，若有沉淀析出，可 70℃加热溶解后使用。

产品说明书

DNS 试剂：常温保存，若有黄色晶体析出，需 90℃加热溶解后再用。

阳性对照（5mmol/L 阿卡波糖）：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。（选做）可根据需要用去离子水稀释成不同浓度。

样本制备

植物组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液冰浴匀浆或研磨，12,000g，4℃离心 10min，取上清液置冰上待测。

细菌：收集约 500 万细菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞，离心后弃上清，加入 1mL 提取液，冰浴超声波破碎细菌 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），12,000g，4℃离心 10min，取上清液置冰上待测。

发酵液等液体样本：直接测定，根据预实验确定稀释倍数，用反应缓冲液进行稀释。

药物：用反应缓冲液稀释至一定浓度。例如 1mg/mL。

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。

实验步骤

1. 酶标仪或可见光分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 540nm，可见光分光光度计去离子水调零。
2. 反应缓冲液和底物溶液 40℃预热 15min。
3. 取 50μL 代测样本至 EP 管中煮沸 5min 作为对照管。
4. 样本测定（在 EP 管中依次加入下列试剂）：

试剂（μL）	空白	空白对照	阳性（可选）	测定	对照
样本	0	0	0	50	50（煮沸 5min）
阳性对照	0	0	50	0	0
反应缓冲液	100	120	50	50	70
底物	100	100	100	100	100

充分混匀，40℃恒温水浴中保温 5min

稀释后的酶制剂	20	0	20	20	0
---------	----	---	----	----	---

充分混匀，40℃恒温水浴中孵育 10min

DNS 试剂	150	150	150	150	150
--------	-----	-----	-----	-----	-----

混匀，沸水浴 5min，冷却，取 200 μL 至 96 孔板或微量玻璃比色皿中，测定 540nm 处的吸光值，计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ； $\Delta A_{\text{空白}} = A_{\text{空白}} - A_{\text{空白对照}}$ ； $\Delta A_{\text{阳性}} = A_{\text{阳性}} - A_{\text{空白对照}}$ 。每个样本需设置一个对照，空白和空白对照只需要测一次。阳性对照孔测定的 α-淀粉酶特异性抑制剂阿卡波糖的抑制率，仅可作为参考，实际测定过程中为可选做孔。在本试剂盒中阿卡波糖约在 1 μmol/L 时会有明显抑制，实测数据会有差异。

注意：

1. 实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。尽量使样本的抑制百分率在 10%-90%。如果计算出来的抑制百分率小于 10%，可增加提取时的样本量或增加液体样本体积进行检测。如果计算出来的抑制百分率大于 90%，可减少提取时的样本量进行检测或减少液体样本体积。
2. 同一批筛选的样本尽可能浓度或提取样本量一致。

结果计算

α-淀粉酶活性抑制率计算：

1. 抑制百分率的计算

抑制百分率 = $(\Delta A_{\text{空白}} - \Delta A_{\text{样本}}) \div \Delta A_{\text{空白}} \times 100\%$

2. IC50 计算

IC50，即抑制剂半抑制浓度。对于确定对 α-淀粉酶有抑制作用的样本，可配制成适当的浓度梯度，分别以样本浓度为横坐标，以抑制百分率为纵坐标做曲线，以此计算得到抑制率为 50%时的样本浓度，即 IC50。

产品说明书

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

PMK1155 α -淀粉酶检测试剂盒（微量法）

PMK1156 β -淀粉酶检测试剂盒（微量法）

PMK1160 淀粉分支酶（SBE）检测试剂盒（微量法）

更多产品详情了解，请关注公众号：

