**Protocol IIII: CNPG3 assay**

**Leverancier:** [**BIOLABO**](https://www.biolabo.fr/pdfs/noticesE/biochimieE/K1523-K2523_EN.pdf)

**Doel:** Het doel van dit protocol is om de alfa-amylase activiteit in de speeksel monsters te bepalen mbv spectrofotometische bepaling.

**Principe:** Alfa-amylase hydrolyseert 2-chloor-p-nitrofenyl-a-D-maltotrioside (CNPG3) om 2-chloor-nitrofenol vrij te maken en vormt 2-chloor-pnitrofenyl-a-D-maltoside (CNPG2), maltotriose (G3) en glucose (G). De absorptie van de toenemende snelheid wordt gemeten bij 405 nm en is evenredig met de alfa-amylase activiteit in het monster.

**Materialen**

* BCA-oplossing
* CNPG3 kit
* R1 buffer pH 6:   
  -- Calciumacetaat 6 mmol/L   
  -- MES buffer 100 mol/L
* R2 subraat:   
  -- CNPG3 2.25 mmol/L   
  -- Caliumthiocyanaat 900 mmol/L   
  -- NaCl 350 mmol/L
* Pipetten en steriele filtertips
* Reageerbuis + reageerbuis rek
* Timer
* Verwarmingsblok bij 37 °C
* Spectrofotometer
* Controles

**Methode**

1. Breng het reagens op kamertemperatuur.
2. Pipetteer 1 ml reagens in een reageerbuis (blanco controle).
3. Incubeer alle buisjes voor 5 minuten bij 37C.
4. Zet de spectrofotometer op 0 met demiwater bij 405 nm.
5. Pipetteer 25 ul monster toe en lees na 1 minuut af.
6. Herhaal de meting om de 1 minuut weer gedurende 2 minuten in (DAbs./min)
7. Vermenigvuldig het antwoord met 3178 om in Units/Liter (U/L) om te zetten.

A black and white text with black text

AI-generated content may be incorrect.