

淀粉酶(AMS)检测试剂盒(碘-淀粉微板法)

产品简介：

淀粉酶(Amylase, AMS)又称 1, 4- α -D-葡聚糖水解酶, 是水解淀粉和糖原的酶类总称, 淀粉酶测定方法主要分为天然淀粉底物方法和确定底物方法, 前者的方法有碘-淀粉法, 后者有以麦戊糖底物的方法, 以 4-NP-G 为底物的方法。

Leagene 淀粉酶(AMS)检测试剂盒(碘-淀粉微板法)其检测原理是血清或血浆等样本中 α -淀粉酶催化淀粉分子中的 α -1,4 糖苷键水解, 产生葡萄糖、麦芽糖以及糊精等, 碘液与未被水解的淀粉结合生成蓝色复合物, 其蓝色深浅与未经酶促反应的空白比较, 可计算出淀粉酶的活力单位, 通过酶标仪检测 660nm 处吸光度, 可用于检测细胞或组织的裂解液或匀浆液、血浆、血清、尿液等样品中内源性的淀粉酶活性; 本法操作简单、易行, 不需要特殊设备、试剂价廉, 是我国目前应用较为广泛的方法, 如果采用分光光度计则检测的样品数将显著较少。该试剂盒仅用于科研领域, 不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成：

名称	编号	TE0201	Storage
		200T	
试剂(A): AMS Assay Buffer		8ml	4°C
试剂(B): KI Solution		0.8ml	4°C 避光
使用说明书		1 份	

自备材料：

- 1、蒸馏水、生理盐水
- 2、96 孔板、酶标仪

操作步骤(仅供参考)：

- 1、KI 工作液：取出 KI Solution 恢复至室温, 按 KI Solution: 蒸馏水=1:9 的比例混匀, 即为 KI 工作液; 4°C 避光, 保存 1 个月。
- 2、准备样品：
 - ①细胞或组织样品：取恰当细胞或组织裂解液, 如果有必要需进行适当匀浆, 低速离心取上清, -20°C 冻存, 用于 AMS 的检测。
 - ②血浆、血清和尿液样品：血浆、血清按照常规方法制备, 用生理盐水 5~10 倍稀释后可以直接用于该试剂盒的测定, 尿液通常用生理盐水 10~20 倍稀释后直接用于测定, -20°C 冻存, 但为了消除样品本身颜色的干扰, 需设置加了样品但不加底物的对照。

③高活性样品：如果样品中含有较高活性的 AMS，可使用生理盐水或 PBS 等进行稀释。

④样品准备完毕后可以用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度 (mg/ml)，以便于后续计算单位蛋白重量组织或细胞内的 AMS 含量。

- 3、AMS 加样：取 96 孔板，按照下表设置空白孔、测定孔，溶液应按照顺序依次加入，并注意避免产生气泡。如果样品中的淀粉酶活性过高，可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定，样品的检测最好能设置平行孔。

加入物(μl)	测定孔	空白孔
AMS Assay Buffer	35	35
37°C 孵育		
待测样品	7	—
混匀，置于 37°C 水浴，准确孵育		
KI 工作液	35	35
蒸馏水	210	217

- 4、AMS 测定：轻轻混匀，蒸馏水调零，酶标仪测定 660nm 处吸光度(记为 $A_{\text{测定}}$ 和 $A_{\text{空白}}$)。

计算结果：

淀粉酶活性单位的定义：100ml 血清中的淀粉酶，在 37°C 15min 水解 5mg 淀粉定义为一个酶活力单位，根据酶活性定义，计算出样品中的 AMS 活性。

血浆、血清和尿液液体样品 AMS 活力(U/dl)

$$=(A_{\text{空白}}-A_{\text{测定}})/A_{\text{空白}} \times (0.4 \times 0.035 \times 15 \times 100) / (5 \times 7.5 \times 0.007) \times \text{稀释倍数}$$

$$=(A_{\text{空白}}-A_{\text{测定}})/A_{\text{空白}} \times 80 \times \text{稀释倍数}$$

细胞或组织样品 AMS 活力(U/mg)

$$=(A_{\text{空白}}-A_{\text{测定}})/A_{\text{空白}} \times (0.4 \times 0.035 \times 15) / (5 \times 7.5 \times 0.007 \times \text{待测样品蛋白浓度})$$

$$=(A_{\text{空白}}-A_{\text{测定}})/A_{\text{空白}} \times 0.8 / \text{待测样品蛋白浓度}$$

式中： $A_{\text{空白}}$ = 空白孔的吸光度

$A_{\text{测定}}$ = 测定孔的吸光度

0.4 = AMS Assay buffer 中淀粉浓度 mg/ml

参考区间(37°C, 健康人)： 血清淀粉酶活性：80 ~ 180U/dl

尿液淀粉酶活性：100 ~ 1200U/dl

注意事项：

- 1、该试剂盒亦可用分光光度计进行检测，但检测的样品数相应急剧减少。
- 2、草酸盐、枸橼酸盐、EDTA 二钠及氟化钠对 AMS 活性有抑制作用，肝素没有；待测样

品中不能含有 AMS 抑制剂，同时需避免反复冻融。

- 3、 酶活性在 400U 以下时与底物的水解量呈线性关系，如测定孔的吸光度比空白孔的吸光度小 1 倍时，应加大样品稀释倍数或减少加入待测样品的量，重新测定，测定结果应乘以稀释倍数。
- 4、 该试剂盒亦适用于其他样品的 AMS 测定，尿液检测应先作 10~20 倍稀释后测定。
- 5、 AMS Assay Buffer 如果出现浑浊或絮状物，应弃用。
- 6、 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 7、 试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

有效期：6 个月有效。低温运输，4℃保存。