

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。

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	ADS029TE0	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℃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℃孵育 5min。		
待测样品	7	—
混匀，置于 37℃水浴，准确孵育 7.5min。		
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 $A_{测定}$ 和 $A_{空白}$)。

计算结果

淀粉酶活性单位的定义：100ml血清中的淀粉酶，在37℃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)

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

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

细胞或组织样品AMS活力(U/mg)

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

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

式中： $A_{空白}$ = 空白孔的吸光度

$A_{测定}$ = 测定孔的吸光度

0.4 = AMS Assay buffer 中淀粉浓度 mg/ml

参考区间(37℃,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。

有效期：6个月。低温运输，4℃保存。