

α -淀粉酶 (α -AMY) 检测试剂盒 (EPS-G7 法) 说明书

(货号: ADS-W-D032 微板法 96 样)

一、产品简介:

本法使用亚乙基阻断的对硝基苯麦芽糖苷为底物, α -淀粉酶将底物水解为乙基麦芽糖 (Et-Gx) 和对硝基苯麦芽糖 (Gy-pNP), Gy-pNP 可被 α -葡萄糖苷酶水解为葡萄糖和对硝基 (pNP) -葡萄糖糖苷。淀粉酶水解反应和 α -葡萄糖苷酶作用的最终结果是产生自由的对硝基苯酚 (p-NP)。p-Np 在 405nm 波长处有特征吸收峰, 其吸光度的变化与样本中 α -淀粉酶的活性呈正相关。

二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 15mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	液体 5mL×1 瓶	4℃保存	
标准管	粉剂 1 支	4℃保存	临用前加0.2ml蒸馏水,一周内用完,配成的浓度见标签

三、所需仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、可调式移液器、离心机、蒸馏水。

四、 α -淀粉酶 (α -AMY) 检测:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免样本和试剂浪费!

1、样本制备:

① 血清或肝素抗凝血浆。标本稳定性: 2℃-25℃保存可稳定 7 天, -20℃保存可稳定 1 年。

② 不可使用溶血标本。

③ 可检测尿液样本: 在尿液中的稳定性: 20℃-25℃保存可稳定 2 天; 2℃-8℃保存可稳定 10 天; -20℃保存可稳定 3 周;

④ 组织样本: 取约 0.1g 组织, 加入 1mL 生理盐水或 0.1mol/L 的 PBS 缓冲液 (PH 7.5), 进行冰浴匀浆。4℃×12000rpm 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照组织质量 (g): 提取液体体积(mL)为 1: 5~10 的比例进行提取。

2、上机检测:

① 酶标仪预热 30min, 设定波长到 405nm。

② 所有试剂解冻至室温, 在 96 孔板中依次加入:

试剂名称 (μ L)	测定管	标准管 (仅做一次)	空白管 (仅做一次)
样本	7		
蒸馏水			7
标准品		7	
试剂一	140	140	140
37℃条件下, 孵育 5min。			
试剂二	50	50	50
混匀, 37℃条件下, 1min 时于 405nm 处读取吸光值 A1, 6min 时读取 A2。 $\Delta A = A2 - A1$ 。			

【注】: 1. 若 A2 值大于 1, 可用生理盐水或蒸馏水对样本进行稀释, 稀释倍数 D 代入计算公式。

2. 若 ΔA 值小于 0.01, 可增加样本加样体积 V1 (如由 7 μ L 增至 20 μ L, 空白管也由 7 μ L 增至 20 μ L 蒸馏水, 标准管是 7 μ L 标准品和 13 μ L 蒸馏水; 其他试剂均保持不变)。则改变后的 V1 代入公式重新计算。

五、结果计算：

1、按照体积计算：

$$\alpha\text{-淀粉酶}(\alpha\text{-AMY}) (\text{U/L}) = (C_{\text{标准}} \times V_2) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div V_1 \times D$$
$$= \text{标品浓度} \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \times D$$

2、按照质量计算：

$$\alpha\text{-淀粉酶}(\alpha\text{-AMY}) (\text{U/g}) = (C_{\text{标准}} \times V_2) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (W \times V_1 \div V) \times D$$
$$= \text{标品浓度} \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div W \div 0.001 \times D$$

C 标准---标品浓度，见标签；

V---加入提取液体积，0.001L；

V1---加入样本体积，0.007mL；

V2---加入标准品体积，0.007mL；

D---稀释倍数，未稀释即为 1；

精密性：重复性 CV 不大于 5%；

批间相对极差 R 不大于 5%。