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:

编号 / 名称	GCTE0201 200T	Storage
试剂(A): AMS Assay Buffer	8ml	4℃
试剂(B): KI Solution	0.8ml	4℃ 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℃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℃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℃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)

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

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

细胞或组织样品 AMS 活力(U/mg)

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

$=(A_{空白}-A_{测定})/A_{空白}\times$0.8/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。

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。

相关产品：

产品编号	产品名称
GCDC0032	Masson 三色染色液
GCDM0007	瑞氏-姬姆萨复合染色液
GCPW0053	Western 抗体洗脱液(碱性)
GCDP0013	GUS 染色液(即用型)
GCTC0713	葡萄糖检测试剂盒(GOD-POD 比色法)
GCTC1167	尿素(Urea)检测试剂盒(脲酶波氏比色法)