



淀粉酶(AMS)检测试剂盒(碘-淀粉比色法)

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。

源叶生物 淀粉酶(AMS)检测试剂盒(碘-淀粉比色法)其检测原理是血清或血浆等样品中 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, 通过分光光度计检测 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, 如果采用酶标仪 100T 可以检测约 1300 次。该试剂盒仅用于科研领域, 不适用于临床诊断或其他用途。

组成:

名称 \ 编号	R21842 100T	R21842 200T	Storage
试剂(A): AMS Assay Buffer	50ml	100ml	4°C
试剂(B): KI Solution	5ml	10ml	4°C 避光
使用说明书	1 份		

自备材料:

- 1、比色杯
- 2、生理盐水、蒸馏水
- 3、分光光度计

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本试剂盒的测定, 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: 按照下表设置空白管、测定管, 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管。

加入物(ml)	测定管	对照管
AMS Assay Buffer	0.5	0.5
37°C 孵育 5min。		
待测样品	0.1	—
混匀, 置于 37°C 水浴, 准确孵育 7.5min。		
KI 工作液	0.5	0.5
蒸馏水	3.0	3.1

4、AMS 测定: 轻轻混匀, 蒸馏水调零, 分光光度计(比色杯光径 1cm)测定 660nm 处吸光度(记为 $A_{\text{测定}}$ 和 $A_{\text{空白}}$)。

计算结果:



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

淀粉酶活性单位的定义: 100ml 血清中的淀粉酶, 在 37°C 15 min 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)

$$=(A_{\text{空白}}-A_{\text{测定}})/A_{\text{空白}}\times(0.4\times 0.5\times 15\times 100)/(5\times 7.5\times 0.1)\times\text{稀释倍数}$$

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

细胞或组织样品 AMS 活力(U/mg)

$$=(A_{\text{空白}}-A_{\text{测定}})/A_{\text{空白}}\times(0.4\times 0.5\times 15)/(5\times 7.5\times 0.1\times\text{待测样品蛋白浓度})$$

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

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、该试剂盒亦可用酶标仪进行检测, 但检测的样品数相应增多。
- 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, 如测定管的吸光度比空白管的吸光度小 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 个月有效; 常温运输, 4°C 保存。