

Amylase Activity Assay Kit

淀粉酶(AMS)检测试剂盒(碘-淀粉微板法)

产品编号	产品名称	规格
BL1479A	淀粉酶(AMS)检测试剂盒(碘-淀粉微板法)	200T
BL1479B	淀粉酶(AMS)检测试剂盒(碘-淀粉微板法)	500T

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。

本产品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

产品组成:

编号	试剂名称	规格		保存条件
		BL1479A	BL1479B	
1	AMS Assay Buffer	8mL	20mL	4°C
2	KI Solution	0.8mL	2mL	4°C避光

使用方法:

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。
 - (1) 血浆、血清: 血浆、血清按照常规方法制备, 直接用于该试剂盒的测定, -20°C冻存。
 - (2) 尿液: 尿液样品最好处理后测定, 方法如下: 取 0.6mL 尿液样品, 加入沸石 0.3g, 加入无氨蒸馏水至 15mL, 反复震荡数次, 吸附尿液中的游离铵盐, 静置后, 吸取稀释尿液, 所测结果乘以 25, 如果尿液比较少, 可以等比例减少各试剂的使用量。如果取 1mL 尿液样品, 应加入沸石 0.5g, 加入无氨蒸馏水至 25mL, 反复震荡数次, 吸附尿液中的游离铵盐, 静置后, 吸取稀释尿液, 所测结果乘以 25。
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 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。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



组分(μL)	测定孔	空白孔
AMS Assay Buffer	35	35
37°C孵育 5min。		
待测样本	7	-
混匀，置于 37°C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})。

结果计算：

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。

1. 血浆、血清和尿液液体样品

$$\text{AMS 活力(U/dl)} = (A_{\text{空白}} - A_{\text{测定}}) / A_{\text{空白}} \times (0.4 \times 0.035 \times 15 \times 100) / (5 \times 7.5 \times 0.007) \times \text{稀释倍数} = (A_{\text{空白}} - A_{\text{测定}}) / A_{\text{空白}} \times 80 \times \text{稀释倍数}$$

2. 细胞或组织样品

$$\text{AMS 活力(U/mg)} = (A_{\text{空白}} - A_{\text{测定}}) / A_{\text{空白}} \times (0.4 \times 0.035 \times 15) / (5 \times 7.5 \times 0.007 \times \text{待测样品蛋白浓度}) = (A_{\text{空白}} - A_{\text{测定}}) / A_{\text{空白}} \times 0.8 / \text{待测样品蛋白浓度}$$

式中：A_{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°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. 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。
2. 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。
3. 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。
4. AMS Assay Buffer 如果出现浑浊或絮状物，应弃用。
5. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
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：

4°C保存 6 个月。

