

α-Glucosidase Activity Assay Kit

α-葡萄糖苷酶(α - GC)活性检测试剂盒 分光法

产品编号	产品名称	规格
BL1803A	α-葡萄糖苷酶(α - GC)活性检测试剂盒 分光法	24T

产品简介:

α-葡萄糖苷酶 (α-GC, EC 3.2.1.20) 又叫α-D-葡萄糖苷水解酶, 广泛分布于动植物和微生物中, 是一类能够从含有α-糖苷键底物的非还原端催化水解 α-1,4-糖苷键, 释放出葡萄糖, 或将游离出的葡萄糖残基转移到另一糖类底物形成α-1, 6 糖苷键, 从而得到低聚异麦芽糖或糖酯、糖肽等物质。α-葡萄糖苷酶与淀粉及糖原等糖代谢密切相关, 对维持生物体的正常生理功能起着重要作用。

α-葡萄糖苷酶可以水解对-硝基苯-α-D 吡喃葡萄糖苷生成对-硝基苯酚, 后者在 405nm 有最大吸收峰, 通过测定吸光值升高速率来计算α-葡萄糖苷酶活性。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	30mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	粉末×1 瓶	4°C保存	临用前甩几下使粉体落入底部, 再加 2.5mL 蒸馏水溶解, 4°C保存。
试剂二	8mL×1 瓶	4°C保存	
试剂三	32mL×1 瓶	4°C保存	
标准品	粉末×1 支	4°C保存	若重新做标曲, 则用到该试剂。

使用方法:

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, 避免实验样本和试剂浪费!

一、样本准备

1. 组织样本:

- (a) 称取约 0.1g 组织 (水分充足的样本可取 0.5g), 加 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆;
- (b) 12000rpm, 4°C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(mL)为 1: 5~10 的比例进行提取。

2. 细胞/细菌样本:

- (a) 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清;
- (b) 取 5×10^6 个细菌或细胞加入 1mL 提取液, 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次);
- (c) 12000rpm 4°C离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 按照每 $0.5 \sim 1 \times 10^7$ 个细菌/细胞加入 1mL 提取液进行提取。

3. 液体样品:

澄清的液体样本直接检测; 若浑浊则离心后取上清液检测。

二、样品测定

1. 分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 405nm, 蒸馏水调零。
2. 在离心管中依次加入:

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。

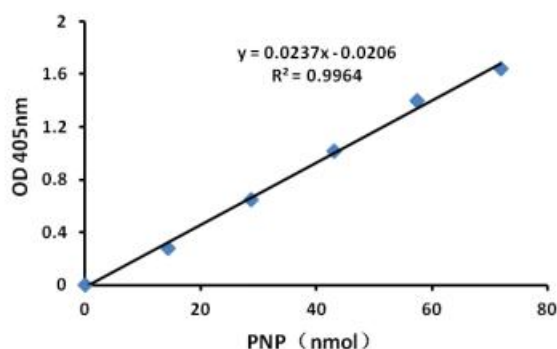


试剂名称 (μL)	测定管	对照管
样本	20	20
试剂一	80	-
蒸馏水	-	80
试剂二	100	100
迅速混匀, 37°C保温 30min		
试剂三	600	600
混匀, 全部液体转移至 1mL 玻璃比色皿中, 405nm 处测定吸光 A, ΔA=A 测定-A 对照 (每个测定管需设一个对照管)。		

【注】: 1.若ΔA 较小, 可以增加 37°C保温反应时间 (如 1 小时), 或者增加样本上样量 (如增至 60μL, 则试剂二相应减少), 则改变后的反应时间 T 或加样体积 V1 需重新代入计算公式计算。

三、结果计算

1. 标准曲线: $y = 0.0237x - 0.0206$; x 是 PNP 摩尔质量 (nmol), y 是 ΔA。



2. 按样本蛋白浓度计算:

定义: 每毫克组织蛋白每分钟产生 1nmol 对-硝基苯酚 (PNP) 定义为一个酶活性单位。

$$\alpha\text{-GC 活性}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mg prot}) = [(\Delta A + 0.0206) \div 0.0237] \div (V1 \times Cpr) \div T \times D$$

$$= 70.32 \times (\Delta A + 0.0206) \div Cpr \times D$$

3. 按样本鲜重计算:

定义: 每克组织每分钟产生 1nmol 对-硝基苯酚 (PNP) 定义为一个酶活性单位。

$$\alpha\text{-GC 活性}(\text{nmol}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = [(\Delta A + 0.0206) \div 0.0237] \div (W \times V1 \div V) \div T \times D$$

$$= 70.32 \times (\Delta A + 0.0206) \div W \times D$$

4. 按细菌或细胞密度计算:

定义: 每 1 万个细菌或细胞每分钟产生 1nmol 对-硝基苯酚 (PNP) 为一个酶活性单位。

$$\alpha\text{-GC 活性}(\text{nmol}/\text{min}/10^4\text{cell}) = [(\Delta A + 0.0206) \div 0.0237] \div (500 \times V1 \div V) \div T \times D$$

$$= 0.14 \times (\Delta A + 0.0206) \times D$$

5. 按液体体积计算:

定义: 每毫升样本每分钟产生 1nmol 对-硝基苯酚 (PNP) 定义为一个酶活性单位。

$$\alpha\text{-GC 活性}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mL}) = [(\Delta A + 0.0206) \div 0.0237] \div V1 \div T \times D = 70.32 \times (\Delta A + 0.0206) \times D$$

V----加入提取液体积, 1mL

W----样本质量, g

T----反应时间, 30min

D---稀释倍数, 未稀释即为 1

V1----加入反应体系中样本体积, 20μL=0.02mL

500----细胞或细菌总数, 万

PNP 对分子质量----139.11

Cpr---样本蛋白质浓度, mg/mL

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。



附：标准曲线制作过程：

1. 制备标准品母液（1mg/mL）：向标准品离心管里面加入 1ml 蒸馏水。
2. 把母液稀释成以下浓度梯度的标准品：0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5mg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
3. 在离心管中依次加入：20 μ L 标准品+80 μ L 蒸馏水+100 μ L 试剂二+600 μ L 试剂三，混匀，全部液体转移至 1mL 玻璃比色皿中，于 405nm 下读取吸光值。
4. 根据结果制作标准曲线。

注意事项：

1. 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。
2. 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 $^{\circ}$ C保存六个月。

