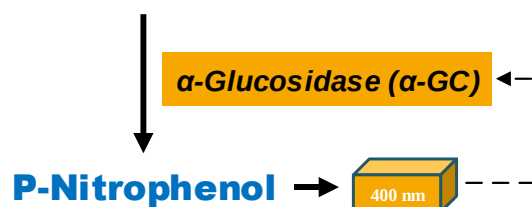




α -葡萄糖苷酶 (α -GC) 活性检测试剂盒
 α -Glucosidase (α -GC) Activity Assay Kit

p-Nitrophenyl α -D-glucopyranoside



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



α -葡萄糖苷酶 (α -GC) 活性检测试剂盒

α -Glucosidase (α -GC) Activity Assay Kit

一、产品描述

α -葡萄糖苷酶 (α -GC) 广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中, 能够催化水解芳基或烷基与糖基原子团之间的 α -糖苷键生成葡萄糖, 是纤维素分解酶系中重要组成成分之一, 并且与细胞壁的松弛或加固、细胞识别和信号分子的产生密切相关。

α -葡萄糖苷酶能够分解对-硝基苯- α -D-吡喃葡萄糖苷生成对-硝基苯酚, 产物在 400 nm 处具有特征吸收峰, 通过吸光值变化即可表征 α -葡萄糖苷酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 120 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂一	粉剂×2 瓶	-20°C保存	使用前每瓶加入 10 mL 蒸馏水充分溶解
试剂二	液体 25 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂三	液体 15 mL×1 瓶	4°C保存	-
标准液	液体 1 mL×1 支	4°C保存	10 μ mol/mL 对硝基苯酚标准液
标准稀释液的制备: 将 10 μ mol/mL 对硝基苯酚标准液使用蒸馏水稀释至 300、200、100、50、25、12.5 nmol/mL。			

序号	A	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度 (nmol/mL)	10000	1000	1000	1000	100	50	25
标准液体积 (μ L)	100	300	200	100	500	500	500
蒸馏水体积 (μ L)	900	700	800	900	500	500	500
稀释后浓度 (nmol/mL)	1000	300	200	100	50	25	12.5

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1.粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按细菌或细胞数量(10^4 个)：提取液体积(mL)为(500-1000)：1的比例（建议1000万细菌或细胞加入1 mL提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率20%或200 W，超声3 s，间隔10 s，重复30次），4℃ 15000 g离心20 min，取上清置于冰上待测。

②组织：按照组织质量(g)：提取液体积(mL)为1：(5-10)的比例（建议称取0.2 g组织，加入1 mL提取液）处理样品，冰浴匀浆，4℃ 15000 g离心20 min，取上清置于冰上待测。

③血清（浆）、培养液等液体样本：直接检测或适当稀释后再进行检测。

2.测定步骤

①分光光度计/酶标仪预热30 min以上，调节波长至400 nm，蒸馏水调零。

②在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	对照组 (μL)	标准组 (μL)	空白组 (μL)
试剂一	160	-	-	-
试剂二	200	200	-	-
粗酶液	40	40	-	-
充分混匀，37℃准确反应30 min，立即放入沸水浴处理5 min (密封以防止水分散失)，流水冷却至室温				
试剂一	-	160	-	-
充分混匀，4℃ 8000 g离心5 min，取上清液				
在96孔板或微量玻璃比色皿中依次加入下列试剂				
上清液	60	60	-	-
标准稀释液	-	-	60	-
蒸馏水	-	-	-	60
试剂三	120	120	120	120
充分混匀，室温静置2 min				

吸光值测定：测定400 nm处吸光值，记为A测定、A对照、A标准和A空白；计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。注：每个测定组均需设一个对照组，空白组只需测定1-2次。

标准曲线的建立：以300、200、100、50、25、12.5 nmol/mL为横坐标(x)，以其对应的 ΔA 标准为纵坐标(y)绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入公式中得到x(nmol/mL)。

3. α -葡萄糖苷酶 (α -GC) 活性计算

①按组织样本蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每小时生成 1 nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\alpha\text{-GC (U/mg prot)} = \frac{x \times V_{\text{反总}}}{V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}} \times T} = \frac{20 \times x}{C_{\text{pr}}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织在每小时生成 1 nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\alpha\text{-GC (U/g)} = \frac{x \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{20 \times x}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 1 万个细菌或细胞每小时生成 1 nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\alpha\text{-GC (U/10}^4\text{ cell)} = \frac{x \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{20 \times x}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每小时生成 1 nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活性单位。

$$\alpha\text{-GC (U/mL)} = \frac{x \times V_{\text{反总}}}{V_{\text{样}} \times T} = 20 \times x$$

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.04 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积，0.4 mL；C_{pr}：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细胞或细菌数量，以万计；T：反应时间，0.5 h。

四、注意事项

①若测定吸光值超出标准线性吸光值范围，建议适当增加样本量或将粗酶液适当稀释后再进行测定，计算时相应修改；

②为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

