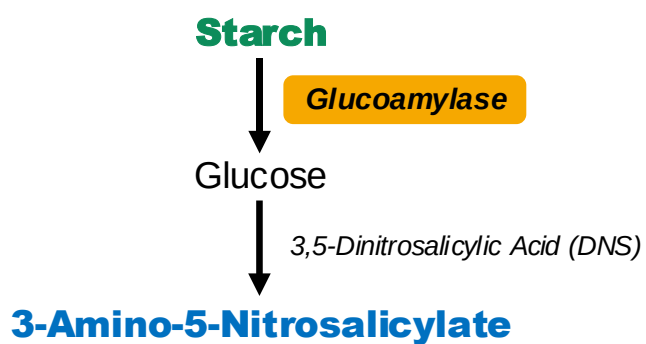




糖化酶活性检测试剂盒

Glucoamylase Activity Assay Kit



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



糖化酶活性检测试剂盒

Glucoamylase Activity Assay Kit

一、产品描述

糖化酶又称葡萄糖淀粉酶，是一种单链酸性糖苷水解酶，具有外切酶活性，能够催化淀粉、糊精和糖原等碳链中非还原性末端的 α -1,4 糖苷键水解生成葡萄糖，同时也能够缓慢作用于 α -1,6 糖苷键，作为重要的工业酶制剂在医药、食品和酿造等领域具有广泛应用。

糖化酶能够催化淀粉生成葡萄糖，进一步与 3,5-二硝基水杨酸反应生成棕红色氨基化合物，产物在 540 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征糖化酶的活性。

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 100 mL×1 瓶	4°C保存	-
基质液	粉剂×1 瓶	4°C保存	使用前加入 40 mL 提取液充分混匀 (置于沸水浴中不断混匀至完全溶解)
显色液	液体 30 mL×1 瓶	4°C避光保存	-
标准品	粉剂×1 支 (10 mg 葡萄糖标准品)	4°C保存	使用前加入 1 mL 提取液充分溶解 (即为 10 mg/mL 葡萄糖标准液)
标准稀释液的制备：将 10 mg/mL 葡萄糖标准液使用提取液稀释至 3.0、2.5、2.0、1.0、0.5、0.25 mg/mL 即为标准稀释液。			

序号	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度 (mg/mL)	10	10	10	2.0	1.0	0.5
标准液体积 (μL)	150	100	100	200	200	200
提取液体积 (μL)	350	300	400	200	200	200
稀释后浓度 (mg/mL)	3.0	2.5	2.0	1.0	0.5	0.25

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、1 mL 玻璃比色皿（光径 10 mm）、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 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，4℃ 10000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量（ 10^4 个）：提取液体积（mL）为（500-1000）：1 的比例（建议 500 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 300 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 3 min），4℃ 10000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③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分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 540 nm，蒸馏水调零。

②灭活酶液的制备：取适量粗酶液沸水浴处理 5 min（密封以防止水分散失），冷却至室温。

③在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μ L)	对照管 (μ L)	标准管 (μ L)	空白管 (μ L)
粗酶液	50	-	-	-
灭活酶液	-	50	-	-
标准稀释液	-	-	50	-
提取液	-	-	-	50
基质液	500	500	500	500
①充分混匀，40℃准确反应 20 min				
②立即沸水浴处理 5 min，冷却至室温				
③10000 g 常温离心 10 min，取上清				
上清液	400	400	400	400
显色液	400	400	400	400
充分混匀，沸水浴处理 5 min，冷却至室温				

注：沸水浴处理过程中注意密封以防止水分散失。

吸光值测定：将反应液置于 1 mL 玻璃比色皿中，测定 540 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：空白管只需测定 1-2 次，每个样品均需设一个对照管。

标准曲线的建立：以 3.0、2.5、2.0、1.0、0.5、0.25 mg/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（mg/mL）。

3.糖化酶（Glucoamylase）活性计算

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：40℃条件下，每 mg 组织蛋白每小时生成 1 mg 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{Glucoamylase (U/mg prot)} = \frac{x \times V_{\text{样总}}}{\text{Cpr} \times V_{\text{样总}} \times T} = \frac{3 \times x}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：40℃条件下，每 g 组织每小时生成 1 mg 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{Glucoamylase (U/g)} = \frac{x \times V_{\text{样总}}}{W \times T} = \frac{3 \times x}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：40℃条件下，每 10⁴ 个细菌或细胞每小时生成 1 mg 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{Glucoamylase (U/10}^4\text{ cell)} = \frac{x \times V_{\text{样总}}}{\text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{3 \times x}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：40℃条件下，每 mL 液体样本每小时生成 1 mg 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

$$\text{Glucoamylase (U/mL)} = \frac{x \times V_{\text{样}}}{V_{\text{样}} \times T} = 3 \times x$$

注释： V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.05 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计；T：反应时间，20 min=1/3 h。

四、注意事项

①若测定吸光值超出标准吸光值线性范围：高于最高值建议将粗酶液使用**提取液**适当稀释后再进行测定，低于最低值建议适当增加样本量或适当延长酶促反应时间后再进行测定，计算时相应修改；

②基质液加入提取液后可缓慢加热至煮沸，加热至溶液呈均一状态即可，若使用过程中出现沉淀70℃水浴加热溶解后再使用；

③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.

