



α -L-岩藻糖苷酶 (AFU) 活性检测试剂盒
 α -L-Fucosidase (AFU) Activity Assay Kit



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



α -L-岩藻糖苷酶 (AFU) 活性检测试剂盒 **α -L-Fucosidase (AFU) Activity Assay Kit****一、产品描述**

α -L-岩藻糖苷酶 (α -L-Fucosidase, AFU) 是一种广泛存在于人体组织细胞、血液和体液中的溶酶体酸性水解酶, 主要参与糖蛋白、糖脂及寡糖的分解代谢过程。AFU 血清活性水平被用作原发性肝癌的重要生物学标志物, 同时在肝硬化、慢性肝炎等疾病中亦呈现异常活性。

α -L-岩藻糖苷酶能够分解对-硝基苯基- α -L-岩藻吡喃糖苷生成 α -L-岩藻糖苷和对-硝基苯酚, 对-硝基苯酚在 405 nm 处具有特征吸收峰, 通过吸光值变化即可表征 α -L-岩藻糖苷酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
提取液	液体 60 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂一	液体 12 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂二	液体 1 mL×1 支	4°C保存	-
试剂三	液体 50 mL×1 瓶	4°C保存	若有晶体析出, 可 37°C超声溶解后使用
标准液	液体 1 mL×1 支	4°C保存	5 μ mol/mL 对硝基苯酚标准液
标准应用液的制备 (现用现配): 使用前将 5 μ mol/mL 对硝基苯酚标准液使用蒸馏水稀释至 100 nmol/mL 即为标准应用液。			

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、狭缝 3 mm、体积 1.05 mL)、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°C 10000 g 离心 10 min, 取上清液置于冰上待测。

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 200 W, 超声 3 s, 间隔 7 s, 总时间 3 min), 4°C 10000 g 离心 10 min, 取上清液置于冰上待测。

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。注：若液体样本浑浊，建议 4°C 10000 g 离心 10 min，取上清液置于冰上待测。

2.测定步骤

- ①分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 405 nm，蒸馏水调零。
- ②试剂二应用液的制备（现配现用）：使用前根据使用量按照试剂一：试剂二=6:1 的体积比配制。
- ③在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μL)	对照管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
粗酶液	200	200	-	-
试剂一	-	200	-	-
试剂二应用液	200	-	-	-
充分混匀，37°C准确反应 30 min				
标准应用液	-	-	400	-
蒸馏水	-	-	-	400
试剂三	720	720	720	720
充分混匀				

吸光值测定：吸取 1 mL 反应液至 1 mL 玻璃比色皿中，测定 405 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白；计算 ΔA 测定=A 测定-A 对照， ΔA 标准=A 标准-A 空白。注：每个样本均需设一个对照管，标准管和空白管只需测定 1-2 次。

3. α -L-岩藻糖苷酶（AFU）活性计算

- ①按组织蛋白浓度计算

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性单位。

$$\text{AFU (U/mg prot)} = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{反总}} \times D}{\Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}} \times T} = \frac{400 \times \Delta A_{\text{测定}} \times D}{\Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{pr}}}$$

- ②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每小时生成 1 nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活性单位。

$$\text{AFU (U/g)} = \frac{C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}} \times D}{\Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{400 \times \Delta A_{\text{测定}} \times D}{\Delta A_{\text{标准}} \times W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10⁴ 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性单位。

$$\text{AFU (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\text{C 标} \times \Delta\text{A 测定} \times \text{V 反总} \times \text{V 提} \times \text{D}}{\Delta\text{A 标准} \times \text{V 样} \times \text{细菌或细胞数量} \times \text{T}} = \frac{400 \times \Delta\text{A 测定} \times \text{D}}{\Delta\text{A 标准} \times \text{细菌或细胞数量}}$$

④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。

$$\text{AFU (U/mL)} = \frac{\text{C 标} \times \Delta\text{A 测定} \times \text{V 反总} \times \text{D}}{\Delta\text{A 标准} \times \text{V 样} \times \text{T}} = \frac{400 \times \Delta\text{A 测定} \times \text{D}}{\Delta\text{A 标准}}$$

注释： C 标：标准应用液浓度，100 nmol/mL；V 反总：酶促反应体系总体积，0.4 mL；V 样：反应体系加入粗酶液体积，0.2 mL；V 提：提取过程中加入提取液体积，1 mL；Cpr：粗酶液蛋白浓度，mg/mL；细菌或细胞数量：以万计，若 500 万细菌或细胞则代入 500 即可；W：样本质量，g；T：酶促反应时间，0.5 h；D：粗酶液稀释倍数，若未稀释则为 1。

四、注意事项

①若 ΔA 测定大于 1.0，建议将粗酶液使用蒸馏水适当稀释后再进行测定；若 ΔA 测定小于 0.05，建议适当延长酶促反应时间（37°C 准确反应 30 min，可以延长至 60 min 以上）或制备更高浓度的样本后再进行测定，计算时相应修改；

②粗酶液应置于冰上待测，建议提取完成后当天完成活性检测；

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.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

