

α-葡萄糖苷酶 (α-GC) 检测试剂盒 (微量法)

货号: PMK1184

保存: -20°C 避光保存 6 个月

规格: 48T/96T

适用样本: 动植物组织、细胞、细菌、血清、血浆、培养液等液体样本

产品简介

α-GC(EC 3.2.1.20)广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中, 催化水解芳基或烃基与糖基之间的 α-糖苷键生成葡萄糖, 不仅与细胞壁的松弛或加固有关, 而且与细胞识别和一些信号分子产生密切相关。本试剂盒提供了一种简单易用的比色法, 用于分析各种生物样品中 α-GC 的活性。其原理是 α-GC 分解对-硝基苯-β-D-吡喃葡萄糖苷生成对-硝基苯酚, 后者在 400nm 有最大吸收峰, 通过测定吸光值升高速率来计算 α-GC 活性。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4°C 保存
试剂一	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	-20°C 保存
试剂二	9mL	18mL	4°C 保存
试剂三	8mL	16mL	4°C 保存
标准品	1mL	1mL	4°C 保存

自备耗材

酶标仪或可见光分光光度计 (能测 400nm 处的吸光度) 及水浴锅

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

离心机、制冰机

去离子水

匀浆器 (如果是组织样本)

试剂准备

提取液: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4°C 保存。

试剂一: 临用前 48T 加入 6mL 去离子水, 96T 加入 12mL 去离子水, 充分溶解备用; 用不完的试剂分装-20°C 保存。

试剂二: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4°C 保存。

试剂三: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4°C 保存。

标准品: 标准品为 5mM (μmol/mL) 的对硝基苯酚溶液, 使用前, 平衡到室温; 4°C 保存。

标准曲线设置: 按下表所示, 用去离子水将 5 μmol/mL 标准品稀释为 1000、500、250、125、62.5、31.25、15.6nmol/mL 标准溶液 的标准溶液。

	标准品体积 (μL)	去离子水体积 (μL)	标准品浓度 (nmol/mL)
标准品 1	40μL of 5 μmol/mL	160	1000
标准品 2	100μL of 标准品 1 (1000nmol/mL)	100	500
标准品 3	100μL of 标准品 2 (500nmol/mL)	100	250

产品说明书

标准品 4	100 μ L of 标准品 3 (250nmol/mL)	100	125
标准品 5	100 μ L of 标准品 4 (125nmol/mL)	100	62.5
标准品 6	100 μ L of 标准品 5 (62.5nmol/mL)	100	31.25
标准品 7	100 μ L of 标准品 6 (31.25nmol/mL)	100	15.6

注意：每次实验，请使用新配制的标准品。

样本制备

动植物组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液冰浴匀浆，15,000g，4℃离心 10min，取上清液置冰上待测。
细胞或细菌：收集 500 万细胞或细菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞，离心后弃上清，加入 1mL 提取液，超声波破碎细胞或细菌 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），15,000g，4℃离心 10min，取上清液置冰上待测。

血清（浆）或培养液等液体样本：直接测定，根据预实验确定稀释倍数。

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用 BCA 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 400nm，可见分光光度计去离子水调零。
2. 样本测定：在 EP 管中依次加入下列试剂

	标准 (μ L)	空白 (μ L)	测定 (μ L)	对照 (μ L)
试剂一	120	120	120	0
去离子水	0	30	0	120
试剂二	150	150	150	150
标准品	30	0	0	0
样本	0	0	30	30

迅速混匀，放入 37℃ 准确水浴 30min 后，立即放入 95℃ 水浴 5min（盖紧，以防止水分散失）。冷却后充分混匀，8000g，4℃，离心 5min，取上清液 70 μ L 加入 96 孔板或微量玻璃比色皿中：

	标准 (μ L)	空白 (μ L)	测定 (μ L)	对照 (μ L)
上清液	70	70	70	70
试剂三	130	130	130	130

充分混匀，室温静置 2min 后，400nm 处测定吸光值 A，计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。每个测定管需设一个对照，空白和标准曲线只需要测一次。

注意：1. 实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 小于 0.005 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 大于 0.4，样本可用去离子水进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数。

结果计算

1. 标准曲线的绘制：

以标准品浓度为 y 轴， $\Delta A_{\text{标准}}$ 为 x 轴，绘制标准曲线（浓度为 y 轴更方便计算结果）。将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入方程计算出 y 值 (nmol/mL)。

2. 样本 α -GC 活性计算

(1) 按样本质量计算

单位的定义：每 g 组织在反应体系中每小时产生 1nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活性单位 U。

$$\alpha\text{-GC 活性 (U/g 质量)} = (y \times V_{\text{反应}}) \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 20 \times y \div W$$

(2) 按液体样本体积计算

单位的定义：每 mL 液体样本在反应体系中每小时产生 1nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活性单位 U。

$$\alpha\text{-GC 活性 (U/mL)} = (y \times V_{\text{反应}}) \div V_{\text{样}} \div T = 20 \times y$$

(3) 按细菌或细胞数量计算

产品说明书

单位的定义：每 1 万个细菌或细胞在反应体系中每小时产生 1nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位 U。

$$\alpha\text{-GC 活性 (U/10}^4\text{ cell)} = (y \times V_{\text{反应}}) \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.04 \times y$$

(4) 按蛋白浓度计算

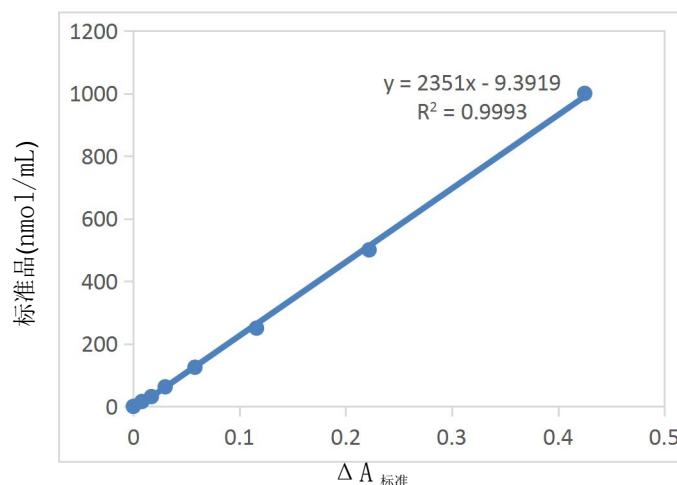
单位的定义：每 mg 组织蛋白在反应体系中每小时产生 1nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位 U。

$$\alpha\text{-GC 活性 (U/mg prot)} = (y \times V_{\text{反应}}) \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div T = 20 \times y \div \text{Cpr}$$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积，0.3mL； W ：样本质量，g； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.03mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL； T ：反应时间，0.5h；500：细胞或细菌总数，500 万； Cpr ：样本蛋白质浓度，mg/mL。

结果展示

典型标准曲线



注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

PMK1185 β -葡萄糖苷酶 (β -GC) / 纤维二糖水解酶检测试剂盒 (微量法)

PMK1176 糖原检测试剂盒 (微量法)

PMK1197 总糖检测试剂盒 (微量法)

PMK1181 还原糖检测试剂盒 (微量法)

PMK1175 植物可溶性糖检测试剂盒 (微量法)

PMK1174 血糖检测试剂盒 (微量法)

PMK1187 β -半乳糖苷酶 (β -GAL) 检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解，请关注公众号：

