

糖化酶检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1193

保存：4℃避光保存 12 个月

规格：48T/96T

适用样本：组织、细胞、细菌、真菌、唾液、培养液等液体样本

产品简介

糖化酶，即葡萄糖淀粉酶（EC3.2.1.3），又称 γ -淀粉酶，是一种外切型糖苷酶，它从淀粉的非还原性末端水解 α -1,4 糖苷键和 α -1,6 糖苷键，将淀粉完全水解为葡萄糖，因此广泛的应用于酒精、白酒、抗生素、氨基酸、有机酸，甘油，淀粉糖等工业中，是我国重要的工业酶制剂之一。本试剂盒提供了一种简单易用的比色法，用于分析生物样品中糖化酶的活性。其原理是糖化酶水解可溶性淀粉生成葡萄糖，与 3,5-二硝基水杨酸生成红棕色化合物，在 540nm 处有最大光吸收，在一定范围内反应液颜色深浅与葡萄糖的量成正比，可测定葡萄糖的量来计算得糖化酶的活力。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃保存
试剂一	粉剂×1 支	粉剂×1 支	4℃保存
试剂二	10mL	20mL	室温避光保存
标准品（10mg 葡萄糖）	粉剂×1 支	粉剂×1 支	4℃保存

自备耗材

酶标仪或可见分光光度计（能测 540nm 处的吸光度）
 96 孔板或微量玻璃比色皿，可调节式移液枪及枪头
 制冰机，离心机，水浴锅
 去离子水
 匀浆器

试剂准备

注意：各组分（小管试剂）开盖前，请先低速离心。

提取液：即用型；4℃保存。

试剂一：临用前 96T 加入 10 mL 去离子水，48T 加入 5 mL 去离子水，上下颠倒摇晃几次，加热至溶解。溶解后的底物 4℃保存，若有沉淀析出，可 70℃加热溶解后使用。

试剂二：即用型；室温避光保存；若有黄色晶体析出，需 90℃加热溶解后再用。

标准品：含 10mg 无水葡萄糖，临用前加入 1mL 去离子水溶解得 10mg/mL 标准品。溶解后的标准品可 4℃保存 1 个月或 -20℃长期保存。

标准曲线设置：按下表所示，用去离子水将 10mg/mL 标准品稀释为 1、0.5、0.25、0.125、0.0625、0.0313、0.0156mg/mL 的标准溶液。

	标准品体积 (μL)	去离子水体积 (μL)	标准品浓度 (mg/mL)
标准品 1	40μL 10mg/mL	360	1
标准品 2	200μL of 标准品 1 (1mg/mL)	200	0.5

产品说明书

标准品 3	200 μ L of 标准品 2 (0.5mg/mL)	200	0.25
标准品 4	200 μ L of 标准品 3 (0.25mg/mL)	200	0.125
标准品 5	200 μ L of 标准品 4 (0.125mg/mL)	200	0.0625
标准品 6	200 μ L of 标准品 5 (0.0625mg/mL)	200	0.0313
标准品 7	200 μ L of 标准品 6 (0.0313mg/mL)	200	0.0156

注意：每次实验，请使用新配制的标准品。

样本制备

组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆，10,000g，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，冰浴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），然后 10,000g，4℃离心 10min，取上清液，置冰上待测。

液体样本：直接测定。

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 540nm，可见分光光度计去离子水调零。

2. 操作表（在 EP 管中）：

	对照管 (μ L)	测定管 (μ L)	标准管 (μ L)	空白管 (μ L)
样本	75	75	0	0
标准品	0	0	75	0
试剂一	0	75	0	0
去离子水	0	0	75	150
充分混匀，40℃反应 20min				
试剂二	150	150	150	150
试剂一	75	0	0	0

混匀，沸水浴 5min（盖紧，防止水分散失），冷却至室温后，取 200 μ L 转移至微量玻璃比色皿或 96 孔板中，于 540nm 处分别读取空白管、标准管、对照管和测定管吸光值，计算 $\Delta A_{测} = A_{测定} - A_{对照}$ ， $\Delta A_{标} = A_{标准} - A_{空白}$ 。

注意：空白管和标准曲线只需测定 1 次，每个测定管设一个对照管。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 $A_{测}$ 大于 2.0，需要将样本用提取液稀释，计算公式中乘以相应稀释倍数。如果 $\Delta A_{测}$ 小于 0.001 可适当加大样本量。

结果计算

1. 标准曲线的绘制：

以标准溶液浓度为 y 轴， $\Delta A_{标准}$ 为 x 轴，绘制标准曲线（浓度为 y 轴更方便计算结果）。

将 $\Delta A_{测}$ 带入方程得到 y (mg/mL)。

2. 糖化酶活性计算

1) 按样本鲜重计算

单位的定义：40℃，PH4.6 条件下，每 g 组织在反应体系中每小时水解可溶性淀粉产生 1mg 葡萄糖的酶量定义为一个酶活力单位 U。

糖化酶活力(U/g 鲜重) = $y \times V_{反应} \div (W \times V_{样} \div V_{样总}) \div T = 6 \times y \div W$

2) 按细菌或细胞数量计算

单位的定义：40℃，PH4.6 条件下，每 1 万个细菌或细胞在反应体系中每小时水解可溶性淀粉产生 1mg 葡萄糖的酶量定义为一个酶活力单位 U。

糖化酶活力(U/ 10^4 cells) = $y \times V_{反应} \div (500 \times V_{样} \div V_{样总}) \div T = 0.012 \times y$

3) 按液体体积计算

产品说明书

单位的定义：40℃，PH4.6 条件下，每 mL 液体样本在反应体系中每小时水解可溶性淀粉产生 1mg 葡萄糖的酶量定义为一个酶活力单位 U。

$$\text{糖化酶活力 (U/mL)} = y \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 6 \times y$$

4) 按照蛋白浓度计算

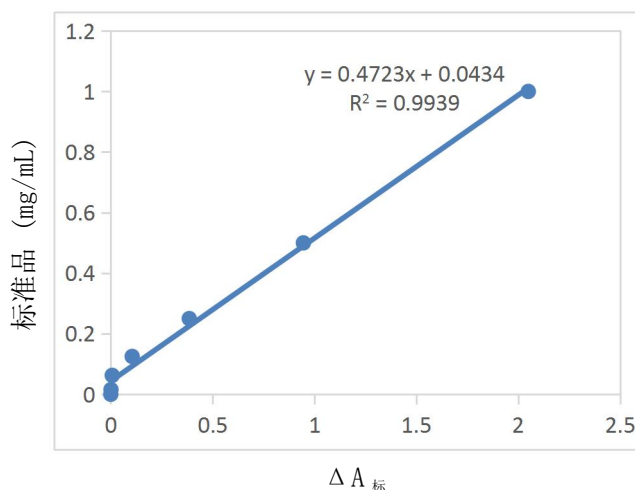
单位的定义：40℃，PH4.6 条件下，每 mg 组织蛋白在反应体系中每小时水解可溶性淀粉产生 1mg 葡萄糖的酶量定义为一个酶活力单位 U。

$$\text{糖化酶活力 (U /mg prot)} = y \times V_{\text{反总}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T = 6 \times y \div C_{\text{pr}}$$

$V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, 0.15mL; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.075mL; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL; T : 反应时间, 20min, 1/3h; W : 样本质量, g; C_{pr} : 样本蛋白质浓度, mg/mL; ; 500: 细菌或细胞总数, 500 万。

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：

PMK1164 葡萄糖检测试剂盒（微量法）

PMK1174 血糖检测试剂盒（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）

PMK1183 β-1,3 葡聚糖酶（β-1,3-GA）检测试剂盒（微量法）

PMK1185 β-葡萄糖苷酶（β-GC）/纤维二糖水解酶检测试剂盒（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：

