

α-葡萄糖苷酶 (α-GC) 抑制筛选试剂盒 (微量法)

货号: PMK1948BKM

保存: -20℃避光保存 6 个月

规格: 48T/24S 96T/48S

适用样本: 药物、动植物组织、细胞、细菌、培养液等液体样本

产品简介

α-葡萄糖苷酶(α-GC; EC 3.2.1.20)是一种重要的糖苷水解酶,广泛存在于动植物及微生物和培养细胞中,主要用于催化芳基或烃基与糖基之间的α-葡萄糖苷键的水解,释放葡萄糖,与细胞识别和一些信号分子产生密切相关,具有重要的生物学和工业应用。因此开发α-GC抑制剂在治疗糖尿病相关研究、天然产物开发、药物发现和基础酶学研究领域扮演着至关重要的角色。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对中α-GC的抑制效果。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,因此,400nm处吸光值会升高,加入抑制剂后会抑制α-葡萄糖苷酶酶活,吸光度上升的速率会降低,根据吸光度差值可计算出抑制率。

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瓶	粉剂×2瓶	-20℃避光保存
试剂二	10mL	20mL	4℃保存
试剂三	8mL	16mL	4℃保存
试剂四	40 μL	80 μL	-20℃保存
阳性对照 (5mmol/L 阿卡波糖)	1mL	1mL	-20℃避光保存

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

匀浆器或研磨仪 (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℃保存。

试剂一: 临用前每瓶加入 7mL 去离子水, 充分溶解备用; 用不完的试剂分装-20℃保存。

试剂二: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4℃保存。

试剂三: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4℃保存。

试剂四: 使用时, 用试剂二进行 1:20 稀释, 整个实验过程中, 冰上避光放置。现用现配, 用多少配多少; 保存于-20℃。

阳性对照 (5mmol/L 阿卡波糖): 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4℃保存。(选做) 可根据需要用去离子水稀释成不同浓度。

样本制备

产品说明书

动植物组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液冰浴匀浆或研磨，15,000g，4℃离心 10min，取上清液置冰上待测。

细胞或细菌：收集约 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），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。

药物：用提取液稀释至一定浓度。例如 1mg/mL。

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。

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

试剂（ μ L）	空白	空白对照	阳性（可选）	测定	对照
试剂一	120	120	120	120	120
试剂二	150	170	120	120	140
阳性对照	0	0	30	0	0
稀释后的试剂四	20	0	20	20	0
样本	0	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：

	空白	空白对照	阳性（可选）	测定	对照
上清液	70	70	70	70	70
试剂三	130	130	130	130	130

充分混匀，室温静置 2min 后，400nm 处测定吸光值 A，计算 $\Delta A_{\text{样本}} = A_{\text{样本}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{空白}} = A_{\text{空白}} - A_{\text{空白对照}}$ ， $\Delta A_{\text{阳性}} = A_{\text{阳性}} - A_{\text{空白对照}}$ 。样本对照是为了扣除样本自身可能含有的酶活和颜色的干扰。每个测定管需设一个对照，空白和空白对照只需要测一次。阳性对照孔测定的为 α -GC 特异性抑制剂阿卡波糖的抑制率，仅可作为参考，实际测定过程中为可选做孔。在本试剂盒中阿卡波糖约在 1 μ mol/L 时会有明显抑制，实测数据会有差异。

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。尽量使样本的抑制百分率在 10%-90%。如果计算出来的抑制百分率小于 10%，可增加提取时的样本量进行检测。如果计算出来的抑制百分率大于 90%，可减少提取时的样本量进行检测。
2. 同一批筛选的样本尽可能浓度或提取样本量一致。
3. 不建议用稀释液直接大比例稀释处理后的样本上清液，某些样本稀释 10 倍左右可能会出现测定孔异常高的反常现象。

结果计算

α -葡萄糖苷酶活性抑制率计算：

1. 抑制百分率的计算

抑制百分率 = $(\Delta A_{\text{空白}} - \Delta A_{\text{样本}}) \div \Delta A_{\text{空白}} \times 100\%$

2. IC50 计算

IC50，即抑制剂半抑制浓度。对于确定对 α -葡萄糖苷酶有抑制作用的样本，可配制成适当的浓度梯度，分别以样本浓度为横坐标，以抑制百分率为纵坐标做曲线，以此计算得到抑制率为 50% 时的样本浓度，即 IC50。

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。

产品说明书

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：

PMK1948 α -葡萄糖苷酶 (α - GC) 抑制筛选试剂盒 (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)

更多产品详情了解，请关注公众号：

