

α -葡萄糖苷酶 (α -GC) 活性检测试剂盒 (微量法)

注意：正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。

产品货号：BA1016

产品规格：100管/48样

产品内容：

提取液：液体100mL×1瓶，4℃保存。

试剂一：粉剂×1瓶，-20℃保存；临用前每瓶加入12mL双蒸水，充分溶解备用；用不完的试剂仍-20℃保存。

试剂二：液体15mL×1瓶，4℃保存。

试剂三：液体15mL×1瓶，4℃保存。

标准品：液体×1支，5 μ mol/mL的对硝基苯酚溶液。

产品说明：

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。

α -GC 分解对-硝基苯- α -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。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、粗酶液提取：

1、细菌或培养细胞的处理：收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照每1000万细菌或细胞加入1mL提取液，超声波破碎细菌或细胞（功率20%，超声3秒，间隔10秒，重复30次），15000g，4℃，离心20min，取上清，置冰上待测。

2、组织的处理：称取约0.2g组织，加入1mL提取液进行冰浴匀浆；15000g，4℃，离心20min，取上清，置冰上待测。

3、标准样品的准备：取100 μ L标准液，加入到400 μ L 试剂三中，得到1 μ mol/mL标准液，十倍稀释到100nmol/mL，用蒸馏水倍比稀释：50、25、12.5、6.25、0 nmol/mL。100、50、25、12.5、6.25、0 nmol/mL做标准液。

二、测定步骤和加样表：

1. 分光光度计或酶标仪预热30min以上，调节波长至400nm，蒸馏水调零。

2. 加样表

试剂名称 (μ L)	测定管	对照管	标准管
试剂一	100		
蒸馏水	150	150	
试剂二	30	30	

充分混匀，放入37℃准确水浴30min后，立即放入沸水浴中煮沸5min（盖紧，以防止水分散失），流水冷却后充分混匀（以保证浓度不变）



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

试剂一		100	
充分混匀，8000g，4℃，离心5min，取上清液（在EP管或96孔板中加入下列试剂）			
充分混匀，8000g，4℃，离心5min，取上清液（在EP管或96孔板中加入下列试剂）			
上清液	70	70	
标准液			70
试剂三	130	130	130

充分混匀，室温静置2min后，400nm处测定吸光值A，计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。

三、 α -GC 活力计算：

1、标准曲线建立：根据标准管的浓度（y）和吸光度（x，各标准管减去浓度为0的标准管为标准管A），建立标准曲线。

2、根据标准曲线，将 ΔA （x）带入公式计算样品产物浓度（nmol/mL）。

（1）按样本蛋白浓度计算：

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

GC 活力(U/mg prot) = $(y \times V_{\text{反总}}) \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 18.67 \times y \div C_{\text{pr}}$

需要另外测定，建议使用本公司 BCA 蛋白质含量测定试剂盒。

（2）按样本鲜重计算：

单位的定义：每g组织在每mL体系中每小时产生1nmol对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

GC 活力(U/g鲜重) = $(y \times V_{\text{反总}}) \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 18.67 \times y \div W$

（3）按细菌或细胞数量计算：

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

GC 活力(U/10⁴ cell) = $(y \times V_{\text{反总}}) \div (1000 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.0187 \times y$

Cpr: 样本蛋白质浓度，mg/mL；V反总：反应体系总体积，0.28mL；V样：加入反应体系中样本体积，0.03mL；

V样总：加入提取液体积，1mL；W：样品质量，g；1000：细胞或细菌总数，1000万；T：反应时间，0.5h。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com