

糖化酶活性检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1378

产品规格：100管/48样

产品简介：

糖化酶，即葡萄糖淀粉酶（EC3.2.1.3），又称 γ -淀粉酶。糖化酶是由一系列微生物分泌的，具有外切酶活性的胞外酶，主要作用是从淀粉、糊精、糖原等碳链上的非还原性末端依次水解 α -1,4糖苷键，切下一个个葡萄糖单元，对于支链淀粉，当遇到分支点时，它也可以水解 α -1,6糖苷键由此将支链淀粉全部水解成葡萄糖。多应用于酒精、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。

糖化酶将可溶性淀粉生成葡萄糖，碱性条件下，葡萄糖与3,5-二硝基水杨酸共热后生成红棕色化合物，在540nm处有最大光吸收，在一定范围内葡萄糖的量与反应液颜色深浅成正比，以此测定糖化酶的活力。

注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

试验中所需的仪器和试剂：

天平、低温离心机、可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96孔板、恒温水浴锅、研钵/匀浆器/超声破碎仪、冰和蒸馏水。

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体70mL×1瓶	2-8℃
试剂一	粉剂×1瓶	2-8℃
试剂二	液体18mL×1瓶	2-8℃
标准品	粉剂×1支	2-8℃

溶液的配制：

1. 试剂一：临用前加入20mL提取液，充分混匀后沸水浴直至溶解（约10min）；
2. 标准品：10mg无水葡萄糖。临用前加1mL提取液溶解为10mg/mL的葡萄糖标准品备用，4℃保存一周。

操作步骤（仅供参考）：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为1：5~10的比例（建议称取约0.1g，加入1mL提取液）加入提取液，冰浴匀浆后于4℃，10000g离心10min，取上清置于冰上待测。
2. 细胞：按照细胞数量（ 10^4 个）：提取液体积（mL）为500~1000：1的比例（建议500万细胞加入1mL提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率300w，超声3秒，间隔7秒，总时间3min）；然后4℃，10000g离心10min，取上清置于冰上待测。
3. 培养液或其它液体：直接检测。

二、测定步骤

1. 分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至540nm，蒸馏水调零。
2. 标准品准备：将标准品用蒸馏水稀释至2、1.5、1.0、0.8、0.4、0.2、0.1mg/mL。
3. 吸取50 μ L样本于1.5mL EP管中沸水浴5min作为对照管的灭活样本。
4. 加样表：



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

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

试剂 (μL)	对照管	测定管	空白管	标准管
灭活样本	15	-	-	-
样本	-	15	-	-
蒸馏水	-	-	15	-
标准品	-	-	-	15
试剂一	150	150	150	150
充分混匀, 40℃反应 20min 后沸水浴 5min, 常温 10000g 离心 10min。				
上清液	100	100	100	100
试剂二	100	100	100	100
混匀, 沸水浴 5min, 流水冷却后, 测定 540nm 处吸光值 A, 计算 $\Delta A_{测} = A_{测定管} - A_{对照管}$, $\Delta A_{标} = A_{标准管} - A_{空白管}$ 。				

三、糖化酶活性计算

1. 标准曲线的绘制:

以标准管的浓度为 x 轴, 对应的 ΔA 标为 y 轴绘制标准曲线, 得到标准方程 $y=kx+b$, 将 $\Delta A_{测}$ 带入方程中计算得 x (mg/mL)。

2. 酶活性计算:

(1) 按照蛋白浓度计算:

酶活性定义: 在 40℃ 每毫克蛋白每小时产生 1mg 葡萄糖所需的酶量为一个酶活力单位。

糖化酶活性 (U/mg prot) = $x \times V_{样总} \div (V_{样总} \times C_{pr}) \div T = 3x \div C_{pr}$

(2) 按照样本质量计算

酶活性定义: 在 40℃ 每克组织每小时产生 1mg 葡萄糖所需的酶量为一个酶活力单位。

糖化酶活性 (U/g 质量) = $x \times V_{样总} \div W \div T = 3x \div W$

(3) 按照液体体积计算

酶活性定义: 在 40℃ 每毫升液体每小时产生 1mg 葡萄糖所需的酶量为一个酶活力单位。

糖化酶活性 (U/mL) = $x \times V_{样} \div V_{样} \div T = 3x$

(4) 按照细胞数量计算

酶活性定义: 在 40℃ 每 10^4 个细胞每小时产生 1mg 葡萄糖所需的酶量为一个酶活力单位。

糖化酶活性 (U/ 10^4 cell) = $x \times V_{样总} \div 500 \div T = 0.006x$

V 样: 反应体系中加入的样本体积, 15μL=0.015mL; V 样总: 加入提取液体积, 1mL; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL, 需自行测定; W: 样本质量, g; T: 反应时间, 20min=0.333h; 500: 细胞数量, 500 万。

注意事项:

测定之前进行预实验, 若吸光值较高, 请将样本用提取液进行适当的稀释再测定, 并在计算公式中乘以稀释倍数。



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