

α -葡萄糖苷酶(α -GC)活性检测试剂盒（可见分光光度法）

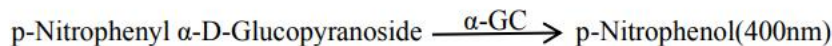
产品货号：BA1933

产品规格：50T/24S

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。

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。



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。

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体50mL×1瓶	2-8℃
试剂一	粉剂×2瓶	-20℃
试剂二	液体25mL×1瓶	2-8℃
试剂三	液体80mL×1瓶	2-8℃
标准品	液体1mL×1支	2-8℃

溶液的配制：

1. 试剂一：临用前取1瓶加10mL蒸馏水，充分溶解备用；用不完的试剂-20℃保存4周，避免反复冻融。
2. 标准品：5 μ mol/mL的对硝基苯酚溶液。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、低温离心机、水浴锅/恒温培养箱、超声破碎仪、可调式移液器、1mL玻璃比色皿、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

操作步骤：

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. 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200W，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。液体样本：直接检测。若溶液有浑浊需离心后取上清进行测定。

二、测定步骤

1. 分光光度计预热30min以上，调节波长至540nm，蒸馏水调零。
2. 标准溶液的稀释：将5 μ mol/mL的标准液用蒸馏水稀释成100、50、25、12.5、6.25、0nmol/mL标准溶液待测。
3. 标准液稀释可参考下表。



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

序号	稀释前浓度 (nmol/mL)	标准液体积 (μL)	蒸馏水体积 (μL)	稀释后浓度 (nmol/mL)
1	5000	100	400	1000
2	1000	200	1800	100
3	100	1000	1000	50
4	50	1000	1000	25
5	25	1000	1000	12.5
6	12.5	1000	1000	6.25
7	6.25	0	1000	0 (空白管)

实验中每个标准管需500μL标准溶液。

4. 加样表:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	标准管
试剂一	400	-	-
试剂二	500	500	-
样本	100	100	-
充分混匀, 放入37℃水浴锅/恒温培养箱中准确反应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)			
试剂一	-	400	-
充分混匀, 8000g, 4℃, 离心5min, 取上清液待测			
上清液	500	500	-
标准液	-	-	500
试剂三	1000	1000	1000
充分混匀, 室温静置2min后, 于400nm处测定吸光值A, 分别记为A测定管、A对照管、A标准管、A空白管。计算 ΔA测定=A测定管-A对照管。ΔA标准=A标准管-A空白管。每个测定管需设一个对照管。标准曲线和空白管只需测1-2次。			

三、α-GC活力计算

1. 标准曲线的建立:

根据标准管的浓度 (x, nmol/mL) 和吸光度 (y, ΔA标准), 建立标准曲线。根据标准曲线, 将ΔA (y, ΔA测定) 代入公式计算样本产物浓度x (nmol/mL)。

2. α-GC活力计算

(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。

$$\alpha\text{-GC活力 (U/mg prot)} = (x \times V_{\text{反总}}) \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 20x \div C_{\text{pr}}$$

(2) 按样本质量计算:

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。

$$\alpha\text{-GC活力 (U/g 质量)} = (x \times V_{\text{反总}}) \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 20x \div W$$

(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。

$$\alpha\text{-GC活力 (U/10}^4\text{ cell)} = (x \times V_{\text{反总}}) \div (1000 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.02x$$

Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL, 蛋白浓度需要另外测定; V反总: 反应体系总体积, 1mL; V样: 加入反应体系中样本体积, 0.1mL; V样总: 加入提取液体积, 1mL; W: 样本质量, g; 1000: 细胞或细菌总数, 1000万; T: 反应时间, 0.5h。

注意事项: 提取液中含有使蛋白变性的成分, 故按蛋白浓度计算时需要重新提取蛋白进行测定。



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