

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号: GBQ235

产品规格: 48T(32 samples)/96T(80 samples)

检测仪器: 酶标仪(390-405 nm)

## Elabscience® $\alpha$ -葡萄糖苷酶( $\alpha$ -GC)比色法测试盒

### $\alpha$ -Glucosidase ( $\alpha$ -GC) Activity Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话: 400-999-2100

邮箱: [biochemical@elabscience.cn](mailto:biochemical@elabscience.cn)

网址: [www.elabscience.cn](http://www.elabscience.cn)

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。  
联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

## 用途

本试剂盒适用于检测动植物组织及真菌中的 $\alpha$ -葡萄糖苷酶( $\alpha$ -GC)的活力。

## 检测原理

$\alpha$ -葡萄糖苷酶( $\alpha$ -glucosidase,  $\alpha$ -GC)又叫 $\alpha$ -D-葡萄糖苷水解酶。 $\alpha$ -GC在自然界广泛分布,种类繁多,性质各异,几乎存在于所有生物体内。它在动物、植物、微生物的糖类代谢方面具有重要的生理功能。如果 $\alpha$ -GC缺失,就会导致严重的糖原代谢紊乱和糖原的过度积累,从而引起庞帕氏病(一种常染色体隐性遗传性糖原贮积病,又叫II型糖原生成疾病)。人体组织中 $\alpha$ -GC活性长期性偏低会引起肌肉纤维的破坏和肌肉萎缩。

本试剂盒的检测原理为 $\alpha$ -葡萄糖苷酶催化底物反应生成的显色物质在波长400 nm处有最大吸收,通过测定其在400 nm处的OD值大小可以反映出 $\alpha$ -GC的酶活大小。

本试剂盒检测动物组织样本时,需测定总蛋白浓度,推荐使用BCA法。(货号:GBQ162)。检测植物组织和真菌样本时,需测定总蛋白浓度,推荐使用考马斯亮蓝法。(货号:GBQ129)。

## 提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	提取液 (Extraction Solution)	50 mL×1 瓶	50 mL×2 瓶	-20°C 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	缓冲液 (Buffer Solution)	7 mL×1 瓶	14 mL×1 瓶	-20°C 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	底物 (Substrate)	0.5 mL×1 支	1 mL×1 支	-20°C 避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	10 mmol/L 标准品溶液 (10 mmol/L Standard Solution)	1 mL×1 支	1 mL×2 支	-20°C 避光 保存 6 个月
	96 孔酶标板	48 孔×1 块	96 孔×1 块	无要求
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同试剂盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

## 所需自备物品

仪器：酶标仪(390-405 nm，最佳检测波长 400 nm)、37°C 恒温箱

## 试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温。

② 工作液的配制：

试剂三：试剂二按照体积比=1: 14配制，按需配制，配制好的工作液1天内使用有效。

③ 1 mmol/L标准品的配制：

将试剂四：双蒸水按体积比=1: 9配制，避光待用，现配现用，当天使用有效。

④ 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度(mmol/L)	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.7	1
1 mmol/L 标准品( $\mu$ L)	0	20	40	60	80	100	140	200
双蒸水( $\mu$ L)	200	180	160	140	120	100	60	0

## 样本准备

### ① 样本处理

组织和真菌样本：按照组织样本质量(g)：试剂一体积(mL)=1：9的比例匀浆，4℃，12000 × g离心15 min，取上清置于冰盒上待测，留取部分上清进行蛋白浓度测定。

### ② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.35-33.43 U/L，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
10%小鼠小肠组织	1-2	10%杏鲍菇组织	不稀释
10%大鼠肾组织	1-2	10%香梨籽	不稀释
10%澳柑籽	不稀释	10%玉米组织	不稀释
10%小鼠肾组织	1-2	10%苹果籽	不稀释

注：稀释液为试剂一。

## 操作步骤

- ① 标准孔：取 20  $\mu\text{L}$  不同浓度的标准品溶液分别加入相应的酶标孔中；  
测定孔：取 20  $\mu\text{L}$  待测样本加入相应的酶标孔中。
- ② 向步骤①的标准孔中加入 120  $\mu\text{L}$  试剂二。  
向步骤①的测定孔中加入 120  $\mu\text{L}$  工作液。
- ③ 振板 5 s，酶标仪 400 nm 波长下检测测定孔 OD 值  $A_1$ 。37°C 孵育 30 min  
后检测测定孔 OD 值  $A_2$  和标准孔的 OD 值。

## 操作表

	标准孔	测定孔
不同浓度的标准品溶液( $\mu\text{L}$ )	20	--
待测样本( $\mu\text{L}$ )	--	20
试剂二( $\mu\text{L}$ )	120	--
工作液( $\mu\text{L}$ )	--	120
振板 5 s，酶标仪 400 nm 波长下检测测定孔 OD 值 $A_1$ 。37°C 孵育 30 min 后检测测定孔 OD 值 $A_2$ 和标准孔的 OD 值。		

本试剂盒检测动物组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法。  
(货号：GBQ162)。检测植物组织和真菌样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用考马斯亮蓝法。(货号：GBQ129)。

## 结果计算

标准品拟合曲线:  $y = ax + b$

样本中 $\alpha$ -葡萄糖苷酶( $\alpha$ -GC)活力计算公式:

定义: 37°C 条件下, 每克样本组织蛋白每分钟催化底物产生 1  $\mu\text{mol}$  的产物所需要的酶量为一个活力单位。

$$\alpha\text{-GC 活力 (U/gprot)} = (\Delta A_{400} - b) \div a \div T \times f \div C_{\text{pr}} \times 1000^*$$

### 注解:

y: 标准品 OD 值-空白 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x: 标准品的浓度

a: 标曲的斜率

b: 标曲的截距

$\Delta A_{400}$ : 样本的变化 OD 值,  $\Delta A_{400} = A_2 - A_1$

T: 反应时间 30 min

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

$C_{\text{pr}}$ : 待测样本的蛋白浓度, gprot/L

1000\*: 1 mmol/L = 1000  $\mu\text{mol/L}$

## 附录1 关键数据

### 1. 技术参数

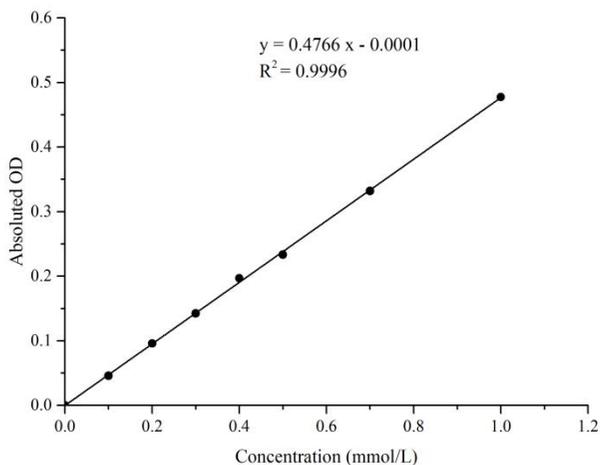
检测范围	0.35-33.43 U/L	批间差	4.2-6.6%
灵敏度	0.35 U/L	批内差	4.4-5.7%
稀释回收率	98-110%		

### 2. 标准曲线(数据仅供参考)

① 不同浓度标准品加样量20  $\mu$ L, 按照操作步骤进行实验, OD值如下表所示:

标准品浓度 (mmol/L)	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.7	1.0
OD 值	0.040	0.086	0.136	0.184	0.256	0.276	0.380	0.521
	0.041	0.087	0.137	0.182	0.219	0.272	0.365	0.515
平均 OD 值	0.041	0.087	0.137	0.183	0.238	0.274	0.373	0.518
绝对 OD 值	0	0.046	0.096	0.143	0.197	0.234	0.332	0.478

② 绘制标曲(如下图):



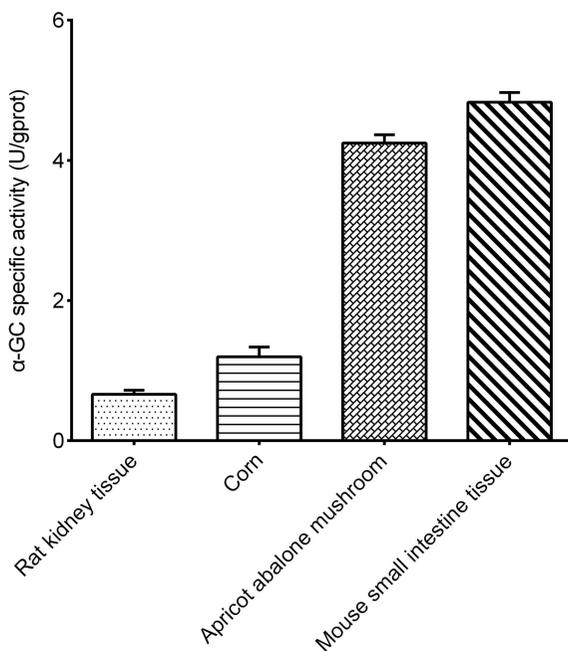
## 附录2 实例分析

例如小鼠小肠组织(数据仅供参考):

将10%小鼠小肠组织匀浆稀释2倍,取20  $\mu\text{L}$ 按操作表进行检测,结果如下:  
标准曲线:  $y = 0.4766x - 0.0001$ , 测定的OD值 $A_1$ 为0.095,  $A_2$ 为0.407,  $\Delta A_{400} = A_2 - A_1 = 0.407 - 0.095 = 0.312$ , 同时测得匀浆蛋白浓度为9.06 gprot/L, 计算结果为:

$$\alpha\text{-GC活力(U/gprot)} = (0.312 + 0.0001) \div 0.4766 \div 30 \div 9.06 \times 2 \times 1000 = 4.82 \text{ U/gprot}$$

按说明书操作,测定大鼠肾组织(10%组织蛋白浓度为12.22 gprot/L, 稀释2倍, 加样量20  $\mu\text{L}$ )、玉米组织(10%组织蛋白浓度为1.56 gprot/L, 加样量20  $\mu\text{L}$ )、杏鲍菇组织(10%组织蛋白浓度为0.34 gprot/L, 加样量20  $\mu\text{L}$ )、小鼠小肠组织(10%组织蛋白浓度为9.06 gprot/L, 稀释2倍, 加样量20  $\mu\text{L}$ )中的 $\alpha\text{-GC}$ 活力(如下图):



## 声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。





