（本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断！）

产品货号：E-BC-K821-M

产品规格：48T(32 samples)/96T(80 samples)

检测仪器：酶标仪(390-405 nm)

Elabscience®α-葡萄糖苷酶(α-GC)比色法测试盒

α-Glucosidase (α-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

网址：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α-葡萄糖苷酶(α-GC)的活力。

检测原理

α-葡萄糖苷酶(α-glucosidase，α-GC)又叫α-D-葡萄糖苷水解酶。α-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α-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α-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α-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α-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：E-BC-K318-M)。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：E-BC-K168-M)。

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	-20ºC 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	缓冲液 (Buffer Solution)	7 mL×1 瓶	14 mL×1 瓶	-20ºC 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	底物 (Substrate)	0.5 mL×1 支	1 mL×1 支	-20ºC 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	-20ºC 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，不同测试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(μL)	0	20	40	60	80	100	140	200
双蒸水(μL)	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°C，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 μL 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 μL 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 μL 试剂二。
向步骤①的测定孔中加入 120 μL 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(μL)	20	--
待测样本(μL)	--	20
试剂二(μL)	120	--
工作液(μL)	--	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：E-BC-K318-M)。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：E-BC-K168-M)。

结果计算

标准品拟合曲线：$y = ax + b$

样本中α-葡萄糖苷酶(α-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 μmol 的产物所需要的酶量为一个活力单位。

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

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

ΔA_{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_{pr}：待测样本的蛋白浓度，gprot/L

1000*：1 mmol/L = 1000 μmol/L

附录1 关键数据

1.技术参数

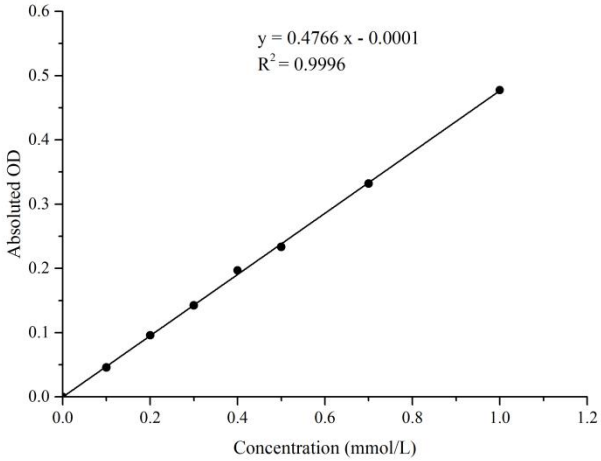
检测范围	0.35-33.43 U/L	批间差	4.2-6.6%
灵敏度	0.35 U/L	批内差	4.4-5.7%
稀释回收率	98-110%		

2.标准曲线(数据仅供参考)

① 不同浓度标准品加样量20 μL，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)：



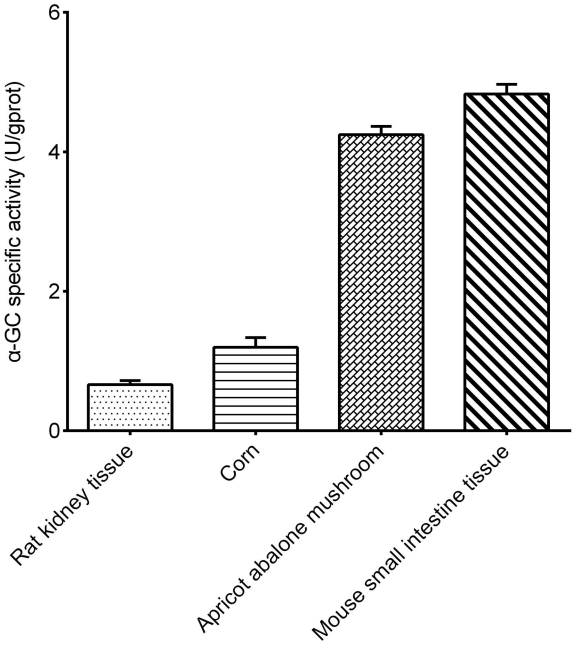
附录2 实例分析

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 μL按操作表进行检测,结果如下:标准曲线:y = 0.4766 x - 0.0001,测定的OD值A_1为0.095,A_2为0.407,ΔA_{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:

α-GC活力(U/gprot) = (0.312 + 0.0001) ÷ 0.4766 ÷ 30 ÷ 9.06 × 2 × 1000 = 4.82 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 μL)、玉米组织(10%组织蛋白浓度为1.56 gprot/L,加样量20 μL)、杏鲍菇组织(10%组织蛋白浓度为0.34 gprot/L,加样量20 μL)、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 μL)中的α-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。