

(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 | -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 | 1 板 | | |
| | 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 ℃ 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℃，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 $^{\circ}\text{C}$ 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 $^{\circ}\text{C}$ 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。

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

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

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 $\mu\text{mol/L}$

附录1 关键数据

1. 技术参数

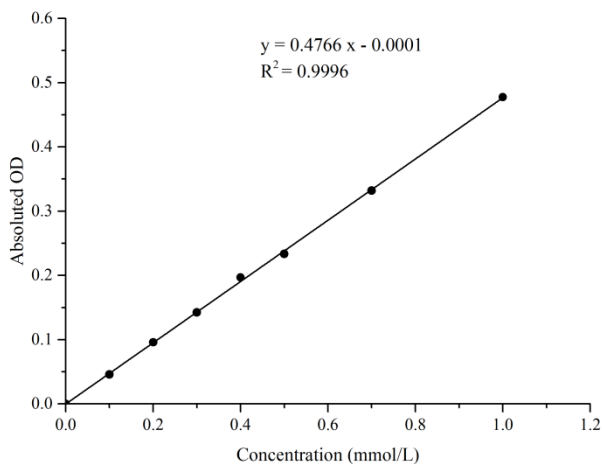
| | | | |
|-------|----------------|-----|----------|
| 检测范围 | 0.35-33.43 U/L | 批间差 | 4.2-6.6% |
| 灵敏度 | 0.35 U/L | 批内差 | 4.4-5.7% |
| 稀释回收率 | 98-110% | | |

2. 标准曲线(数据仅供参考)

① 不同浓度标准品加样量20 μ 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):



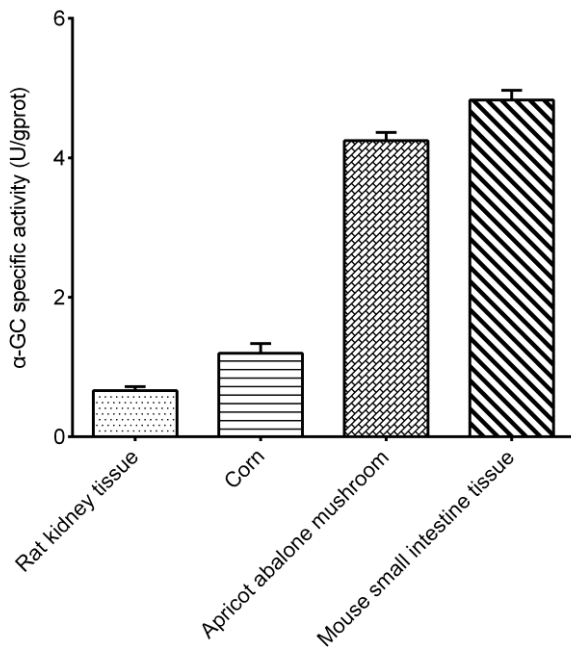
附录2 实例分析

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 μL 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 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 $\alpha\text{-GC}$ 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。

