

α-葡萄糖苷酶检测试剂盒 (50T)

一般说明

α-葡萄糖苷酶(EC.3.2.1.20)为淀粉水解酶类中的一种,它又被称为α-葡萄糖苷水解酶或葡萄糖基转移酶(GTase),是一种α-D-葡萄糖苷酶。主要在细胞外起作用。它从多糖的非还原末端水解底物的α-葡萄糖苷键,产生α-D-葡萄糖,α-葡萄糖苷酶来源广泛,在人体糖原的降解和动植物、微生物的糖类代谢方面具有重要的生理功能。检测原理是利用p-硝基苯-α-葡萄糖吡喃糖苷能被α-葡萄糖苷酶水解成黄色的产物(最大吸光率为405nm),其反应与酶的活性成正比,线性检测范围在2-250 U/L。

产品用途

直接检测生物样本中的α-葡萄糖苷酶活性。

试剂盒组成与保存

缓冲液: 6 mL (pH 7.0)	-20℃保存
底物: 0.5mL	-20℃保存
校准液: 5 mL (相当于 250 U/L)	-20℃保存

检测步骤

该检测基于酶催化的动力学反应,推荐使用多管移液器。反应试剂需快速加入,溶液的混合应短暂而彻底。检测可以在室温或37℃条件下进行。

准备反应试剂:所有组分放置到室温,按每孔需200μL缓冲液、8μL α-NPG底物试剂的比例,混合足量反应试剂。在室温下,反应试剂可以稳定至少一天,但仍推荐现用现配。

样品准备:酶样品可置于50 mM (pH 7.0)的磷酸盐缓冲液或其他合适的酶缓冲液中,以下化学物质会对酶活性有影响,应避免接触:如含有巯基的试剂(二巯苏糖醇,2-巯基乙醇和谷胱甘肽),Ca²⁺,Cu²⁺,Fe³⁺/Fe²⁺,Hg²⁺,Mg²⁺,Ni²⁺,Zn²⁺,SDS,EDTA与三羟甲基氨基甲烷等。

1. 取透明平底96孔板,将20 μL蒸馏水(H₂O)加入到两个孔中。向其中一孔内加入200 μL蒸馏水,另一孔中加入200 μL校准液(总量为220 μL)。取20 μL样品加入到其它孔中,并在样品孔内加入200 μL反应试剂(总量为220 μL),轻拍使其混合。
2. 读取OD_{405 nm}值(t=0),并在20分钟后再次读取该值(t=20 min)。

酶活性计算

样品的α-葡萄糖苷酶活性(U/L)计算如下:

$$\alpha\text{-葡萄糖苷酶活性} = \frac{OD_{20} - OD_0}{OD_{\text{校准液}} - OD_{H_2O}} \times 250 \text{ (U/L)}$$

OD₂₀与OD₀分别为样品在0分钟与20分钟时的OD_{405nm}值。OD标准液与OD_{H2O}分别为校准液与H₂O的OD_{405nm}值。

单位定义:pH=7.0时,1单位酶每分钟可催化1μmole的底物的转化。

预防措施:本产品仅供研究用,使用过程中应严格遵循实验安全措施。