

## α-葡萄糖苷酶检测试剂盒 (100T)

### 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: 12 mL (pH 7.0) -20℃保存

底物: 1 mL -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(二硫苏糖醇，2-巯基乙醇和谷胱甘肽)，Ca<sup>2+</sup>，Cu<sup>2+</sup>，Fe<sup>3+</sup>/Fe<sup>2+</sup>，Hg<sup>2+</sup>，Mg<sup>2+</sup>，Ni<sup>2+</sup>，Zn<sup>2+</sup>，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(H<sub>2</sub>O)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<sub>405 nm</sub>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：

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

OD<sub>20</sub>与OD<sub>0</sub>分别为样品在0分钟与20分钟时的OD<sub>405nm</sub>值。OD标准液与OD<sub>H<sub>2</sub>O</sub>分别为校准液与H<sub>2</sub>O的OD<sub>405nm</sub>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。