α-葡萄糖苷酶（α-GC）活性检测试剂盒说明书

规格：48 样　　方法：酶标仪法

一、注意事项

1. 使用前请通读一遍说明书再开始实验。
2. 正式检测前选取 2~3 个样本进行预检测。
3. 本试剂盒仅用于科研。

二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
提取液	55 mL×1	4℃	
试剂一	粉剂×1	-20℃	临用前加入 6 mL 蒸馏水，充分溶解备用；用不完的试剂仍-20℃保存。
试剂二	17 mL×1	4℃	
试剂三	15 mL×1	4℃	

三、仪器和用品

酶标仪、96 孔板、移液器、天平、可降温离心机、超纯水/蒸馏水、研磨仪/研钵、冰、水浴锅。

四、样品制备

1. 组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1.：5~10 的比例（建议称取约 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液），进行冰浴匀浆。15000 g，4℃离心 10 min，置于冰上，上清为待测液。

2. 细菌/细胞：提取液体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细菌/细胞加入 1 mL 提取液），冰浴超声波破碎细菌/细胞（功率 300 W，超声 3 秒，间隔 7 s，总时间 3 min）；然后 15000 g，4℃，离心 10 min，置于冰上，上清为待测液。

3. 液体样本：澄清的液体的样本直接测定，若浑浊则离心后取上清液检测。

五、测定步骤

1. 酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 400 nm 处。
2. 在 96 孔板中依次加入

	测定管	对照管
试剂一（μL）	120	-
试剂二（μL）	150	150
样本（μL）	30	30
充分混匀，放入 37℃准确水浴 30 min 后，立即放入 95℃水浴 5 min（盖紧，以防止水分散失），流水冷却后充分混匀（以保证浓度不变），8000 g，4℃离心 5 min，取上清液（在 96 孔板中加入下列试剂）。		
上一步上清液（μL）	70	70
试剂三（μL）	130	130
充分混匀，室温静置 2 min 后，400 nm 处测定吸光值，记作 A 测定管和 A 对照管；ΔA=A 测定管-A 对照管。每个测定管需设一个对照管。		

六、计算

标准方程

标准条件下测得回归方程为：y=0.0039x-0.0027；x 为标准品浓度（nmol/mL），y 为吸光值ΔA。

1. 按样本重量计算

单位的定义：每 g 组织每分钟产生 1 nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活性单位。

α-葡萄糖苷酶活性（nmol/min/g 鲜重）=[（ΔA+0.0027）÷0.0039×V 反总]÷（W×V 样÷V 提取）÷T=85.47×（ΔA+0.0027）÷W

2. 按样本蛋白浓度计算

单位的定义：每 mg 组织蛋白每分钟产生 1 nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活性单位。

α-葡萄糖苷酶活性（nmol/min/mg prot）=[（ΔA+0.0027）÷0.0039×V 反总]÷（V 样×Cpr）÷T=85.47×（ΔA+0.0027）÷Cpr

3. 按细菌/细胞数量计算

单位的定义：每1万个细菌或细胞每分钟产生1 nmol对-硝基苯酚定义为一个酶活性单位。

α-葡萄糖苷酶活性（nmol/min/10^4 cell）=[（ΔA+0.0027）÷0.0039×V 反总]÷（N×V 样÷V 提取）÷T=85.47×（ΔA+0.0027）÷N

V 反总：反应体系总体积，0.3 mL；V 样：加入反应体系中样本体积，0.03 mL；V 提取：加入提取液体积，1 mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；N：细胞/细菌总数，万个；T：反应时间，30 min。

七、产品简介

α-葡萄糖苷酶是植物和微生物体内催化α-葡萄糖苷键水解的关键酶。主要功能是催化蔗糖、麦芽糖及其他含有末端α-葡萄糖基的低聚糖和糖苷类化合物水解，释放游离葡萄糖，在植物体内糖分利用、细胞壁多糖降解及微生物分解植物残体的过程中发挥重要作用，是评价植物糖代谢能力、能量供应水平及品质形成的重要酶学指标。