

α-葡萄糖苷酶(AG)活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AMHB2-M48	α-葡萄糖苷酶(AG)活性检测试剂盒	48T	微量法
AMHB2-M96		96T	

一、测定意义：

组织及血液α-葡萄糖苷酶测定是临床诊断与疾病研究的关键检测手段。组织中α-葡萄糖苷酶活性分析，有助于探究糖代谢紊乱相关疾病的病理机制，为肿瘤细胞增殖、神经退行性病变等疾病中细胞代谢异常的研究提供重要依据；血液α-葡萄糖苷酶活性检测则可作为庞贝病（酸性麦芽糖酶缺乏症）等遗传性代谢疾病的重要筛查指标，通过定量测定酶活性，辅助疾病早期诊断、病情严重程度评估，并可用于监测酶替代治疗效果及病情进展，为临床精准诊疗和预后判断提供重要参考。

二、测定原理：

底物在α-葡萄糖苷酶作用下水解，释放出游离的对硝基酚。加入碱性溶液停止反应，并使对硝基酚显色。在400nm处测吸光度，可计算酶活力单位。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量 (48T)	试剂装量 (96T)	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 110mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂一	液体 15mL×1 瓶	液体 30mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂二	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	-20℃保存
试剂二的配制： 用时每瓶粉剂加入试剂一6mL，混匀充分溶解，-20℃分装保存1个月。			
试剂三	液体 15mL×1 瓶	液体 30mL×1 瓶	2~8℃保存
标准品 (1mg/mL)	液体 1mL×1 支	液体 1mL×2 支	2~8℃保存

四、操作步骤：

样本前处理

1、组织：按照组织质量 (g) :提取液(mL)为 1:10 的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆。5000 rpm, 4℃离心 10 min, 取上清置冰上待测；

2、细菌/细胞：按照细胞数量 (10⁴ 个) : 提取液体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例（建议 500 万细胞加入 1mL 提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率 200W, 超声 3 秒, 间隔 7 秒, 总时间 5min）；然后 10000g, 4℃离心 10min, 取上清置于冰上待测；

3、血清（浆）等液体样本：直接测定。若有浑浊请离心后取上清待测。

测定步骤

- 1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 405nm，蒸馏水调零；
- 2、试剂回复至常温；
- 3、将 1mg/mL 标准品用蒸馏水依次稀释至 0、10、20、40、60、80、100μg/mL，备用；
- 4、操作表（在离心管中加入以下试剂）：

试剂名称	测定管	对照管	空白管	标准管
样品 (μL)	10	10	-	-
蒸馏水 (μL)	-	-	10	
不同浓度标准品(μL)	-	-	-	10
试剂一 (μL)	100	100	100	100
试剂二 (μL)	20	-	20	20
混匀，37℃孵育 30min。				
试剂三 (μL)	100	100	100	100
试剂二 (μL)	-	20	-	-
混匀，静置 3min，空白管调零，于波长 405nm 测定各管吸光度，分别记为 A _{测定} , A _{对照} , A _{空白} , A _{标准} ，计算 $\Delta A = A_{测定} - A_{对照}$, $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白}$ 。注意：每个样本需设一个对照，空白管和标准管只需做 1-2 个。				

五、 α -葡萄糖苷酶(AG)活性计算：

1、标准曲线绘制：以吸光度值为横坐标，标准品浓度为纵坐标，绘制标准曲线 $y = kx + b$, x 为吸光度值, y 为标准品浓度浓度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)。

根据标准曲线，将 ΔA 带入公式计算出样本浓度 (y , $\mu\text{g}/\text{mL}$)；

2、血清样本 AG 计算

单位定义：每 mL 血清（浆）每小时催化产生 $1\mu\text{g}$ 对硝基酚的量为一个酶活性单位。

计算公式： $AG (\text{U}/\text{mL}) = y \times V_{\text{样}} \div V_{\text{总}} \div T = 2 \times y$

3、组织、细胞样本 AG 计算

(1) 按样本质量计算：

单位定义：每克组织每小时催化产生 $1\mu\text{g}$ 对硝基酚的量为一个活力单位。

计算公式： $AG (\text{U}/\text{g}) = y \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{总}}) \div T = 2 \times y \div W$

(2) 按蛋白浓度计算：

单位定义：每毫克蛋白每小时催化产生 $1\mu\text{g}$ 对硝基酚的量为一个活力单位。

计算公式： $AG (\text{U}/\text{mg prot}) = y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times Cpr) \div T = 2 \times y \div Cpr$

(3) 按照细菌或细胞数量计算：

单位定义：每 1 万个细菌或细胞每小时催化产生 $1\mu\text{g}$ 对硝基酚的量为一个活力单位。

计算公式： $AG (\text{U}/10^4 \text{ cell}) = y \times V_{\text{样}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{总}}) \div T$

$$= 0.004 \times y$$

$V_{\text{总}}:$ 加入提取液总体积, 1mL ; $V_{\text{样}}:$ 加入样本体积, $10\mu\text{L}=0.01\text{mL}$;

$T:$ 反应时间, $30\text{min}=0.5\text{h}$; $Cpr:$ 样本蛋白质浓度, mg/mL ; $W:$

样本质量, g ; $500:$ 细胞数量, 500 万。

六、注意事项：

1、比色时，溶液呈现淡黄色，在 2h 内保持稳定；

2、不同植物样本的 α -葡萄糖苷酶差异较大，根据样本活性可以适当增加或者减少称取样本重量，也可增加反应时间；

3、实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期：2025 年 4 月 7 日

修改日期：2025 年 4 月 7 日