

植物 α -葡萄糖苷酶试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PMHB2-C48	植物 α -葡萄糖苷酶(S- α -GC)试剂盒	48T	常量法

一、测定意义

植物 α -葡萄糖苷酶深度参与植物有机质的转化过程，主要是由以纤维素为底物的微生物分泌，水解纤维二糖和其他水溶性的纤维糊精产生形成葡萄糖，供微生物自身生长利用。植物 α -葡萄糖苷酶的活性能够反映植物形成的生物气候及生态学条件、植物生物化学过程的强度及植物肥力水平。

二、测定原理

以对硝基苯- α -D 吡喃葡萄糖苷为底物，水解生成对硝基酚，产物显黄色，在 400nm 有特征吸收峰。

三、试剂组成

试剂名称	试剂装量(48T)	保存条件
试剂一	60mL×1 瓶	4℃ 保存
试剂二	粉剂×2 瓶	-20℃ 保存
试剂二应用液配制： 每瓶粉剂加入试剂一 3mL，充分溶解。		
试剂三	20mL×1 瓶	4℃ 保存
试剂四	120mL×1 瓶	4℃ 保存
标准品（1mg/mL）	1mL×1 瓶	4℃ 保存

四、操作步骤

样本前处理

取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，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 0.1g 组织，加入 1mL 提取液），旋涡混匀抽提 3-5 分钟或者使用组织破碎仪冰浴提取，8000g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

操作步骤

1、培养反应：

	测定管	对照管
上清液（ μ L）	0.1	0.1
试剂一（ μ L）	500	500
蒸馏水（ μ L）	-	100
试剂二应用液（ μ L）	100	-

混匀，37℃孵育 0.5h		
试剂三 (μL)	100	100

混匀，10000 转/min 常温离心 10min，取上清液备用。

2、显色反应：（标准品稀释详见附录 I）

	测定管	对照管	标准管
上清液 (μL)	100	100	-
不同浓度的标准品 (μL)	-	-	100
试剂四 (μL)	900	900	900

混匀，静置 10min，波长 400nm，1cm 光径，蒸馏水调零，测定各管吸光度值。

注：每个待测样本需设定一个测定管和一个对照管；

五、单位定义与计算

1、标准条件下测定回归曲线：

$y=82.508x-0.6705$ ；x为吸光值，y为标准品浓度（mg/mL）。

2、α-葡萄糖苷酶活性：

（1）按照样本质量计算

单位定义：每小时每克植物中产生 1μg 对硝基酚为一个酶活力单位

计算公式：根据标准曲线，将吸光度值带入标曲计算出上清液中浓度 Y（μg/mL）

$$\alpha\text{-GC(U/g)} = (Y_{\text{测定管}} - Y_{\text{对照管}}) \times V_{\text{提取}} \div W \div T$$

T：反应时间，0.5h；

$V_{\text{提取}}$ ：提取液体积，0.7mL；

W：样本质量，0.1g。

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、甲苯易挥发，操作时候宜在通风橱中进行。

七、公司介绍

陌凡生物科技有限公司是一家专业从事转基因检测、食品安全以及动植物疫病检测为核心业务的生物科技公司。能够为客户提供动植物疫病检测试剂、小分子抗原抗体、植物激素、植物抗体、重组蛋白等优质产品。自主研发了涵盖分子生物学、细胞生物学、免疫学、生物医学等领域的各种试剂盒。产品覆盖面广，品质可靠。

附录 I：标准曲线的制备

1、前处理：

将 1mg/mL 的标准品用双蒸水稀释成 0、3.125、6.25、12.5、25、50、100 μ g/mL 标准液进行标准曲线的制备。

2、操作表：

标准品浓度 (μ g/mL)	0	3.125	6.25	12.5	25	50	100
标准品 (μ L)	100	100	100	100	100	100	100
试剂四 (μ L)	900	900	900	900	900	900	900

混匀，静置 10min，波长 400nm，1cm 光径，蒸馏水调零，测定各管吸光度值。

3、测定结果：

标准品浓度 (μ g/mL)	吸光度值	绝对吸光度值
0	0.001	0.000
3.125	0.049	0.048
6.25	0.089	0.088
12.5	0.166	0.165
25	0.319	0.318
50	0.603	0.602
100	1.225	1.224

