上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话：021-61312973　传真：021-55068248
网址：www.shyuanye.com
邮箱：shyysw@sina.com

AGH 检测方法

1 原理：

p-Nitrophenyl-α-D-glucopyranoside (PNPG)→ （α- glucosidase ）

p-Nitrophenol (PNP)+ α-D-Glucose

PNPG 的出现可以通过 400nm 的光吸收进行检测。

2 试剂：

A： 200mM Phosphate buffer pH7.0

B： 20mM PNPG solution

C： 0.2MNa2CO3

D： 酶稀释液 0.2M K-phosphate buffer,pH 7.0 containing 1mM of EDTA and 0.05% of Tween 20

3 操作规程：

3.1 样品准备

若待测样品为固体，按 10mg 样品/1000μL 超纯水比例溶解。溶解后于 2-8 度放置 30min。

3.2 检测方法

3.2.1 1.0ml A+ 0.5ml B，温和混匀，在 37℃温浴 5min。

3.2.2 加入 0.5ml 样品，温和混匀。

3.2.3 在 37℃温浴 15min 后，加入 2.0mlC 去终止反应，在 400nm 波长检测吸光值（ODtest）.

3.2.4 活性值（U/ml）范围为 0.006-0.022U/ml，若超出范围，待测样品需经试剂 D 稀释后再次进行检测。

3.2.5 测定样品前需检测空白反应值，其他操作不变，用 D 代替样品加入后进行反应,测定 OD blank。

3.2.6 计算公式

活性(U/ml) $=\frac{\triangle OD(OD\ test-OD\ blank)\times Vt\times df}{18.1\times t\times 1.0\times Vs}$ =△OD×0.0295×df