

# 组织及血液β-葡萄糖苷酶(β-GC) 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
AMHB3-M48	组织及血液β-葡萄糖苷酶(β-GC)试剂盒	48T	微量法

## 产品说明：

β-GC (EC 3.2.1.21) 广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中，催化β-糖苷键水解，具有多方面生理作用：在纤维素的糖化作用中，β-GC负责进一步水解纤维素二糖和纤维素寡糖生成葡萄糖；β-GC水解萜烯类香气前驱体，使糖苷键合态变成游离态。从而产生香味；β-GC能够水解植物体内野黑樱苷，释放HCN，从而防止昆虫取食。β-GC分解对-硝基苯-β-D-吡喃葡萄糖苷生成对-硝基苯酚，后者在400nm有最大吸收峰，通过测定吸光值升高速率来计算β-GC活性。

## 试剂组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 100 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	粉剂×2 瓶	-20℃保存
试剂二	液体 15 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 15 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	液体 1 mL×1 支	2-8℃保存

## 溶液的配制：

- 1、试剂一：临用前取 1 瓶加入6 mL 蒸馏水，充分溶解；用不完的试剂-20℃分装保存4 周，避免反复冻融；
- 2、标准品：5 μmol/mL 的对硝基苯酚溶液。

## 操作步骤：

### 一、样本处理

- 1、细菌或培养细胞的处理：收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照细菌或细胞数量（10<sup>4</sup> 个）：提取液体积（mL）为500~1000: 1 的比例（建议 1000 万细菌或细胞加入 1mL 提取液），超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次），15000g，4℃条件下离心20min，取上清，置冰上待测。
- 2、组织的处理：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0.2g 组织，加入 1mL 提取液），进行冰浴匀浆；15000g，4℃条件下离心20min，取上清，置冰上待测。

### 二、测定步骤

- 1、分光光度计或酶标仪预热30min以上，调节波长至400nm，分光光度计用蒸馏水调零。
- 2、标准液的稀释：临用前将5 μmol/mL标准液稀释至100、50、25、12.5、6.25、0 nmol/mL标准溶液待测。

3、标准液稀释可参考下表:

序号	稀释前浓度 (nmol/mL)	标准液体积 (μL)	蒸馏水体积 (μL)	稀释后浓度 (nmol/mL)
1	5000	100	400	1000
2	1000	200	1800	100
3	100	1000	1000	50
4	50	1000	1000	25
5	25	1000	1000	12.5
6	12.5	1000	1000	6.25
7	6.25	0	1000	0 (空白管)

备注: 实验中每个标准管需30μL标准溶液。

4、加样表:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	标准管
试剂一	120	-	-
试剂二	150	150	-
样本	30	30	-
充分混匀, 放入37°C水浴锅/恒温培养箱中准确水浴30min后, 立即放入沸水浴中煮沸5min (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)			
试剂一	-	120	-
充分混匀, 8000g, 4°C离心5min, 取上清液待测			
上清液	70	70	-
标准液	-	-	70
试剂三	130	130	130
充分混匀, 室温静置2min后, 400nm处测定吸光值A, 分别记为A测定、A对照、A标准、A空白。计算ΔA测定=A测定-A对照, ΔA标准=A标准-A空白。每个测定管需设一个对照管。标准曲线和空白管只需测1-2次。			

三、β-GC 活力单位的计算

1、标准曲线建立:

根据标准管的浓度 (x, nmol/mL) 和吸光度 (y, ΔA标准), 建立标准曲线。根据标准曲线, 将ΔA (y, ΔA测定) 带入公式计算样本产物浓度x (nmol/mL)。

2、按样本蛋白浓度计算

单位的定义: 每mg组织蛋白每小时产生1nmol对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\beta\text{-GC活力(U/mg prot)} = (x \times V_{\text{反总}}) \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 20x \div C_{\text{pr}}$$

3、按样本质量计算

单位的定义: 每g组织在每小时产生1nmol对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\beta\text{-GC活力(U/g 质量)} = (x \times V_{\text{反总}}) \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}})$$

4、按细菌或细胞数量计算

单位的定义: 每1万个细菌或细胞每小时产生1nmol对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

---

$$\beta\text{-GC活力(U/10}^4\text{ cell)}=(x\times V_{\text{反总}})\div(1000\times V_{\text{样}}\div V_{\text{样总}})\div T=0.02x$$

Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL, 蛋白浓度需要另外测定; V 反总: 反应体系总体积, 0.3mL; V 样: 加入反应体系中样本体积, 0.03mL; V 样总: 加入提取液体积, 1mL; W: 样本质量, g; 1000: 细胞或细菌总数, 1000 万; T: 反应时间, 0.5h。