

β-葡萄糖苷酸酶 (β-GUS) 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 |
|------------|---------------|------|------|
| PMHG6--C24 | β-葡萄糖苷酸酶检测试剂盒 | 24T | 常量法 |
| PMHG6--C48 | | 48T | 常量法 |

一、测定意义：

β-葡萄糖苷酸酶 (β-GUS) 是一种分布广泛的水解酶。在动物和微生物中都有分布；但在绝大多数植物细胞和许多细菌及真菌内不存在内源 GUS 活性，因而 GUS 基因广泛用作转基因植物、细菌和真菌的报告基因。

二、测定原理：

β-葡萄糖苷酸酶 (β-GUS) 水解对硝基酚-D-葡萄糖醛酸苷生成对硝基酚 (PNP)，通过检测该产物在 405nm 处的增加速率即可得出 β-GUS 酶活性大小。

三、试剂组成：

| 试剂名称 | 试剂装量(24T) | 试剂装量(48T) | 保存条件 |
|---------------------------------------|-------------|-------------|--------|
| 提取液 | 液体 30mL×1 瓶 | 液体 60mL×1 瓶 | 2-8℃保存 |
| 试剂一 | 液体 30mL×1 瓶 | 液体 60mL×1 瓶 | 2-8℃保存 |
| 试剂二 | 粉剂 ×1 瓶 | 粉剂 ×2 瓶 | -20℃保存 |
| 试剂二配制： 用时每瓶粉剂加入试剂一 6mL，混匀充分溶解。 | | | |
| 试剂三 | 液体 30mL×1 瓶 | 液体 60mL×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

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) 处理样品，室温研磨至匀浆，4℃ 10000 g 离心 10 min，取

上清即为粗酶液，置于冰上待测。

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、测定前将试剂恢复至常温；
- 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、样本测定 (在玻璃比色皿中依次加入下列试剂)：

| 试剂名称 | 测定管 | 对照管 | 标准管 | 空白管 |
|--|-----|-----|-----|-----|
| 样本 (μL) | 50 | 50 | - | - |
| 蒸馏水 (μL) | - | - | - | 50 |
| 标准液 (μL) | - | - | 50 | - |
| 试剂一 (μL) | 400 | 400 | 400 | 400 |
| 试剂二 (μL) | 100 | - | 100 | 100 |
| 充分混匀，37℃孵育 30min | | | | |
| 试剂三 (μL) | 500 | 500 | 500 | 500 |
| 试剂二 (μL) | - | 100 | - | - |
| 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 _{标准} ，A _{空白} ，计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{对照}$ ， $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白}$ 。 | | | | |

五、β-葡萄糖苷酸酶活性测定：

- 1、标准曲线的建立：根据标准管的浓度 (y, mg/mL) 和吸光度 $\Delta A_{标准}$ (x, $\Delta A_{标准}$)，建立标准曲线。根据标准曲线，将 $\Delta A_{测定}$ (x, $\Delta A_{测定}$) 带入公式计算样本浓度 (y, mg/mL)。

1、按样本蛋白浓度计算

单位定义：每毫克组织蛋白每分钟催化产生 1μg 对硝基酚的量为一个活力单位。

计算公式： $\beta\text{-GUS (U/mg prot)} = y \times V_{样} \div (Cpr \times V_{样}) \div T = 0.033 \times y \div Cpr$

2、按样本质量计算

单位定义：每克组织每分钟催化产生 1 μ g 对硝基酚的量为一个活力单位。

计算公式： β -GUS (U/g) = $y \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.033 \times y \div W$

$V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.05mL； $V_{\text{样总}}$ ：粗酶液总体积，1 mL； C_{pr} ：样本蛋白浓度，mg/mL； W ：样本质量，g； T ：反应时间：30 min.

六、 注意事项：

- 1、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；
- 2、为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

【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