

## β-葡萄糖苷酶 (β-GC) 活性检测试剂盒 (微量法)

产品货号: BA1020

产品规格: 100管/48样

### 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。

**注意:** 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。

### 产品组成:

| 试剂名称 | 规格         | 保存条件 |
|------|------------|------|
| 提取液  | 液体100mL×1瓶 | 4℃   |
| 试剂一  | 粉剂×1瓶      | -20℃ |
| 试剂二  | 液体15mL×1瓶  | 4℃   |
| 试剂三  | 液体15mL×1瓶  | 4℃   |
| 标准品  | 液体1mL×1支   | 4℃   |

### 溶液的配制:

试剂一: 临用前每瓶加入12mL双蒸水, 充分溶解备用; 用不完的试剂仍-20℃保存;

标准品: 5μmol/mL的对硝基苯酚溶液。

### 需自备的仪器和用品:

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水

### 操作步骤:

#### 一、样本处理 (可适当调整待测样本量, 具体比例可以参考文献)

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; 按照每1000万细菌或细胞加入1mL提取液, 超声波破碎细菌或细胞 (功率20%, 超声3s, 间隔10s, 重复30次), 15000g, 4℃, 离心20min, 取上清, 置冰上待测。
2. 组织的处理: 称取约0.2g组织, 加入1mL提取液进行冰浴匀浆; 15000g, 4℃, 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, 蒸馏水调零。
2. 标准样本的准备: 取100μL标准液, 加入到400μL试剂三中, 得到1μmol/mL标准液, 十倍稀释到100nmol/mL,



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司  
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

用蒸馏水倍比稀释：50、25、12.5、6.25nmol/mL。100、50、25、12.5、6.25、0nmol/mL做标准液。

3. 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℃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℃，离心5min，取上清液（在EP管或96孔板中加入下列试剂）  |     |     |     |
| 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，计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。<br>每个测定管需设一个对照管。 |     |     |     |

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）和吸光度（减去浓度为0标准管的OD值，y），建立标准曲线。根据标准曲线，将 $\Delta A$ （y）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。

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

蛋白浓度需要另外测定。

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。

$$\beta\text{-GC活力(U/g 质量)} = (x \times V_{\text{反总}}) \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 20x \div W$$

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。

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

Cpr: 样本蛋白质浓度，mg/mL；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。



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**  
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com