

β-葡萄糖苷酸酶(β-GUS)酶活检测试剂盒（荧光法）

产品货号：BA2597

产品规格：48样/96样

产品简介：

β-葡萄糖苷酸酶（β-GUS，EC3.2.1.31）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。

该法以4-甲基伞形酮酰-β-D-葡萄糖醛酸苷酯(4-MUG)为底物，GUS催化其水解生成4-甲基伞形酮(4-MU)及β-D葡萄糖醛酸。4-MU分子中的羟基解离后被365nm的光激发，产生455nm的荧光，通过荧光量来计算GUS酶活力。

产品组成：

试剂名称	48样	96样	保存条件	备注
提取液	液体55mL×1瓶	液体110mL×1瓶	2-8℃	
试剂一	液体6mL×1瓶	液体12mL×1瓶	2-8℃	
试剂二	粉剂mg×2支	粉剂mg×2支	-20℃	临用前甩几下或离心使粉剂落入底部，每支再加1.5mL蒸馏水溶解（可超声溶解），溶解好的试剂-20℃保存。
试剂三	液体6mL×1瓶	液体11mL×1瓶	2-8℃	
标准品	粉体mg×1支	粉体mg×1支	2-8℃	若重新做标曲，则用到该试剂。

需自备的仪器和用品：

酶标仪、黑色 96 孔板、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、研钵、冰。

β-葡萄糖苷酸酶（β-GUS）活性测定：

1. 样本制备：

(1) 组织样本：取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液，进行冰浴匀浆。12000rpm，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例进行提取。

(2) 细菌/细胞：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取约 500 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 20%或 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；15000rpm 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照细菌或细胞数量(10⁴个)：提取液体积(mL)为 500~1000：1 比例进行提取。

2. 上机检测：

(1) 酶标仪预热 30min 以上，调节波长。

(2) 所有试剂解冻至室温，在 EP 管中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管	空白管
样本	50	-
提取液	-	50
试剂一	100	100
试剂二	50	50
迅速混匀，37℃保温 30min		
试剂三	100	100
混匀，若有沉淀需室温 12000rpm 离心 5min 后，取 200μL 上清液至黑色 96 孔板中，		



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

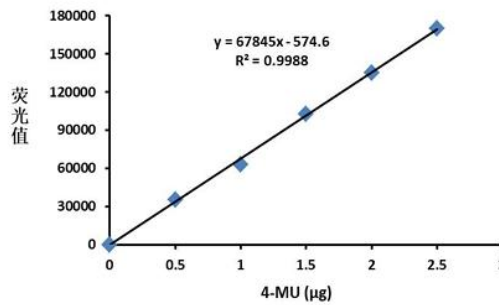
http://www.saint-bio.com

于激发波长 365nm, 发射波长 455nm 处测定吸光值 A, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。

- 【注】** 1. 若 ΔA 较小, 可以增加 37°C 保温反应时间 T (如增至 1 小时), 或增加样本量 V1, 则试剂一相应减少, 则改变后的 T 和 V1 需重新代入计算公式计算。
2. ΔA 最好控制在标准曲线的线性范围内, 若 ΔA 的值超过标准曲线最高点, 可对样本进行稀释再测定, 稀释倍数 D 代入计算公式计算; 或减少样本量 V1 (如减至 10 μ L, 则试剂一相应增加), 或减少 37°C 保温反应时间 T (如减至 10min), 则改变后的 T 和 V1 需重新代入计算公式计算。

结果计算:

1. 标准曲线方程为 $y = 67845x - 574.6$; x 为标准品即 4-MU 的质量 (μ g), y 为 ΔA 。



2. 按照样本质量计算:

酶活定义: 在 37°C 下, 每克组织每小时水解 1nmol 底物产生 4-MU 定义为 1 个酶活单位。

$$\beta\text{-GUS 活性 (nmol/h/g 鲜重)} = [(\Delta A + 574.6) \div 67845] \div 176.2 \times 10^3 \div (W \times V1 \div V) \div T \times D$$

$$= 0.0034 \times (\Delta A + 574.6) \div W \times D$$

3. 按照样本蛋白浓度计算:

酶活定义: 在 37°C 下, 每毫克蛋白每小时水解 1nmol 底物产生 4-MU 定义为 1 个酶活单位。

$$\beta\text{-GUS (nmol/h/mg prot)} = [(\Delta A + 574.6) \div 67845] \div 176.2 \times 10^3 \div (Cpr \times V1) \div T \times D$$

$$= 0.0034 \times (\Delta A + 574.6) \div Cpr \times D$$

4. 按细胞数量计算:

酶活定义: 在 37°C 下, 每 10⁴ 个细胞每小时水解 1nmol 底物产生 4-MU 定义为 1 酶活单位。

$$\beta\text{-GUS (nmol/h/10^4 cell)} = [(\Delta A + 574.6) \div 67845] \div 176.2 \times 10^3 \div (500 \times V1 \div V) \div T \times D$$

$$= 0.0034 \times (\Delta A + 574.6) \div 500 \times D$$

5. 按液体体积计算:

酶活定义: 在 37°C 下, 每毫升液体每小时水解 1nmol 底物产生 4-MU 定义为 1 个酶活单位。

$$\beta\text{-GUS (nmol/h/mL)} = [(\Delta A + 574.6) \div 67845] \div 176.2 \times 10^3 \div V1 \div T \times D$$

$$= 0.0034 \times (\Delta A + 574.6) \times D$$

W---样品质量, g;

V---提取液体积, mL;

V1---上清液体积 (mL), 0.05mL;

T---反应时间, 30min=1/2h;

D---稀释倍数, 未稀释即为 1;

500---细胞数量, 万; 176.2---4-MU 的分子量;

Cpr---上清液蛋白质浓度, mg/mL; 建议使用本公司的 BCA 蛋白质含量测定试剂盒。

附: 标准曲线制作过程:

1. 制备标准品母液(0.1mg/mL): 向标准品管中加入 2mL 乙醇溶解即 1mg/mL, 再用乙醇稀释 10 倍即得 0.1mg/mL 标准品母液。
2. 把母液用乙醇稀释成以下浓度梯度的标准品: 0, 10, 20, 30, 40, 50 μ g/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
3. 依据测定管加样体系, 于激发波长 365nm, 发射波长 455nm 处测定; 根据结果即可制作标准曲线。



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