

## β-葡萄糖苷酶(β-GC)活性检测试剂盒说明书

### β-glucosidase Assay Kit

微量法

货号: AK045

规格: 100T / 48S

产品组成及保存条件:

	规格	储存条件
提取液 ES02	液体 100mL×1 瓶	4℃保存
AK045-A	粉剂×1 瓶	-20℃保存; 临用前每瓶加入12mL 蒸馏水, 充分溶解备用; 剩余试剂需-20℃保存。
AK045-B	液体 15mL×1 瓶	4℃保存
AK045-C	液体 15mL×1 瓶	4℃保存

- 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

意义: 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。

原理: 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。

自备用品:

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、微量石英比色皿/96 孔板、研钵、冰和蒸馏水。

粗酶液提取:

1. 细菌或培养细胞: 先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 ES02 体积(mL)为 500~1000:1 的比例(建议 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液 ES02), 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); 15000g 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
2. 组织: 按照组织质量 (g): 提取液 ES02 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 ES02), 进行冰浴匀浆。15000g 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
3. 液体样本直接使用。

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. 加样表

试剂名称	测定管(ul)	对照管(ul)
AK045-A	120	
AK045-B	150	150
样本	30	30
迅速充分混匀, 放入 37℃准确水浴 30min 后, 立即放入 95℃水浴 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)		
AK045-A		120
充分混匀, 8000g, 4℃, 离心5min, 取上清液		
上清液	70	70
AK045-C	130	130
充分混匀, 室温静置 2min 后, 400nm 处测定吸光值 A, 计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。每个测定管需设一个对照管。		

### β-GC 活力计算:

#### a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

标准条件下测定的回归方程为  $y = 0.32x - 0.0027$ ; x 为标准品浓度 (nmol/mL), y 为吸光值。

(1) 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。

$\beta\text{-GC 活力 (nmol/h/mg prot)} = [(\Delta A + 0.0027) \div 0.32 \times V_{\text{反应}}] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 62.5 \times (\Delta A + 0.0027) \div C_{\text{pr}}$

蛋白定量检测建议使用本公司: BCA Protein Assay Kit ([C05-02001](#))。

(2) 按样本鲜重计算:

单位的定义: 每克组织每小时产生1nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$\beta\text{-GC 活力 (nmol/h/g 鲜重)} = [(\Delta A + 0.0027) \div 0.32 \times V_{\text{反应}}] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 62.5 \times (\Delta A + 0.0027) \div W$

(3) 按细菌或细胞密度计算:

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。

$\beta\text{-GC 活力 (nmol/h/10^4 cell)} = [(\Delta A + 0.0027) \div 0.32 \times V_{\text{反应}}] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.125 \times (\Delta A + 0.0027) \div W$

**注:** Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; V 反应: 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; 500: 细胞或细菌总数, 500 万; T: 反应时间, 0.5h。

#### b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

标准条件下测定的回归方程为  $y = 0.16x - 0.0027$ ; x 为标准品浓度 (nmol/mL), y 为吸光值。

(1) 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。

$\beta\text{-GC 活力 (nmol/h/mg prot)} = [(\Delta A + 0.0027) \div 0.16 \times V_{\text{反应}}] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 125 \times (\Delta A + 0.0027) \div C_{\text{pr}}$

蛋白定量检测建议使用本公司: BCA Protein Assay Kit ([C05-02001](#))。

(2) 按样本鲜重计算:

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

$\beta\text{-GC 活力 (nmol/h/g 鲜重)} = [(\Delta A + 0.0027) \div 0.16 \times V_{\text{反应}}] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 125 \times (\Delta A + 0.0027) \div W$

(3) 按细菌或细胞密度计算:

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。

$\beta\text{-GC 活力 (nmol/h/10^4 cell)} = [(\Delta A + 0.0027) \div 0.16 \times V_{\text{反应}}] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.25 \times (\Delta A + 0.0027) \div W$

**注:** Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; V 反应: 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; 500: 细胞或细菌总数, 500 万; T: 反应时间, 0.5h。