

β-Glucosidase Activity Assay Kit

β-葡萄糖苷酶(β-GC)/纤维二糖酶活性检测试剂盒 分光法

产品编号	产品名称	规格
BL1804A	β-葡萄糖苷酶(β-GC)/纤维二糖酶活性检测试剂盒 分光法	24T

产品简介:

β-葡萄糖苷酶(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,催化水解β-D-葡萄糖键,与植物细胞生长发育过程中壁的松弛和加固有关,也与植物细胞的识别和一些信号分子的产生有联系。

β-葡萄糖苷酶(β-GC)可以水解对-硝基苯-β-D-吡喃葡萄糖苷生成对-硝基苯酚(PNP),后者在405nm有最大吸收峰,通过测定吸光值升高速率来计算β-葡萄糖苷酶活性。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	30mL×1瓶	4°C保存	
试剂一	粉末×1瓶	4°C保存	临用前甩几下使粉体落入底部,再加2.5mL蒸馏水溶解,4°C保存。
试剂二	8mL×1瓶	4°C保存	
试剂三	32mL×1瓶	4°C保存	
标准品	粉末×1支	4°C保存	若重新做标曲,则用到该试剂。

使用方法:

建议正式实验前选取2个样本做预测定,了解本批样品情况,熟悉实验流程,避免实验样本和试剂浪费!

一、样本准备

1. 组织样本:

- 称取约0.1g组织(水分充足的样本可取0.5g),加1mL提取液,进行冰浴匀浆;
- 12000rpm,4°C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(mL)为1:5~10的比例进行提取。

2. 细胞/细菌样本:

- 先收集细菌或细胞到离心管内,离心后弃上清;
- 取 5×10^6 个细菌或细胞加入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);
- 12000rpm 4°C离心10min,取上清,置冰上待测。

【注】:若增加样本量,按照每 $0.5 \sim 1 \times 10^7$ 个细菌/细胞加入1mL提取液进行提取。

3. 液体样品:

澄清的液体样本直接检测;若浑浊则离心后取上清液检测。

二、样品测定

- 分光光度计预热30min以上,调节波长至405nm,蒸馏水调零。
- 所有试剂解冻至室温(25°C)或水浴锅(25°C)中孵育10min。
- 在离心管中依次加入:

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意:在体外研究使用,不用于诊断或治疗用途,本产品不是医疗装置。

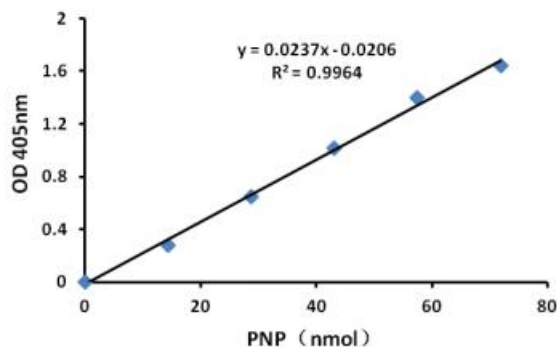


试剂名称 (μL)	测定管	对照管	空白管 (仅做一次)
样本	20	20	-
试剂一	80	-	80
蒸馏水	-	80	20
试剂二	100	100	100
迅速混匀, 37°C保温 30min			
试剂三	600	600	600
混匀, 全部液体转移至 1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm) 中, 405nm 处测定吸光值 A, ΔA=A 测定-A 对照-A 空白(每个测定管需设一个对照管)。			

【注】: 1.若ΔA 较小, 可以增加 37°C保温反应时间 (如 1 小时), 或者增加样本上样量 (如增至 60μL, 则试剂二相应减少), 则改变后的反应时间 T 或加样体积 V1 需重新代入计算公式计算。

三、结果计算

1. 标准曲线: $y = 0.0237x - 0.0206$; x 是 PNP 摩尔质量 (nmol), y 是 ΔA。



2. 按样本蛋白浓度计算:

定义: 每毫克组织蛋白每分钟产生 1nmol 对-硝基苯酚 (PNP) 定义为一个酶活性单位。

$$\alpha\text{-GC 活性}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mg prot}) = [(\Delta A + 0.0206) \div 0.0237] \div (V1 \times Cpr) \div T \times D$$

$$= 70.32 \times (\Delta A + 0.0206) \div Cpr \times D$$

3. 按样本鲜重计算:

定义: 每克组织每分钟产生 1nmol 对-硝基苯酚 (PNP) 定义为一个酶活性单位。

$$\alpha\text{-GC 活性}(\text{nmol}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = [(\Delta A + 0.0206) \div 0.0237] \div (W \times V1 \div V) \div T \times D$$

$$= 70.32 \times (\Delta A + 0.0206) \div W \times D$$

4. 按细菌或细胞密度计算:

定义: 每 1 万个细菌或细胞每分钟产生 1nmol 对-硝基苯酚 (PNP) 为一个酶活性单位。

$$\alpha\text{-GC 活性}(\text{nmol}/\text{min}/10^4\text{cell}) = [(\Delta A + 0.0206) \div 0.0237] \div (500 \times V1 \div V) \div T \times D$$

$$= 0.14 \times (\Delta A + 0.0206) \times D$$

5. 按液体体积计算:

定义: 每毫升样本每分钟产生 1nmol 对-硝基苯酚 (PNP) 定义为一个酶活性单位。

$$\alpha\text{-GC 活性}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mL}) = [(\Delta A + 0.0206) \div 0.0237] \div V1 \div T \times D = 70.32 \times (\Delta A + 0.0206) \times D$$

V----加入提取液体积, 1mL

W----样本质量, g

T----反应时间, 30min

D---稀释倍数, 未稀释即为 1

V1----加入反应体系中样本体积, 20μL=0.02mL

500----细胞或细菌总数, 万

PNP 对分子质量----139.11

Cpr---样本蛋白质浓度, mg/mL

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



附：标准曲线制作过程：

1. 制备标准品母液（1mg/mL）：向标准品离心管里面加入 1ml 蒸馏水。
2. 把母液稀释成以下浓度梯度的标准品：0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5mg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
3. 在离心管中依次加入：20 μ L 标准品+80 μ L 蒸馏水+100 μ L 试剂二+600 μ L 试剂三，混匀，全部液体转移至 1mL 玻璃比色皿中，于 405nm 下读取吸光值。
4. 根据结果制作标准曲线。

注意事项：

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：

4 $^{\circ}$ C保存六个月。

