上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话：021-61312973　　传真：021-55068248
网址：www.shyuanye.com
邮箱：shyysw@sina.com

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：R41765-100T

规格：100T/48S

产品组成及保存条件：

货号	规格	储存条件
提取液	100mL×1 瓶	4℃保存
R41765-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 4 周，避免反复冻融。
R41765-B	15mL×1 瓶	4℃保存
R41765-C	15mL×1 瓶	4℃保存
R41765-标准品（5μmol/mL）	1mL×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、微量玻璃比色皿/96 孔板、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、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（10^4个）：提取液体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液），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），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/酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 400nm，蒸馏水调零；

2. 标准液的稀释：临用前将 5μmol/mL 标准液用蒸馏水稀释至 300、200、100、50、25、10、0 nmol/mL 标准溶液待测；

3. 加样表：

试剂名称	测定管(μL)	对照管(μL)	标准管(μL)
R41765-A	120		
R41765-B	150	150	
样本	30	30	
迅速混匀，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）			
R41765-A		120	
充分混匀，8000g，4℃，离心 5min，取上清液			
上清液	70	70	
标准液			70
R41765-C	130	130	130
充分混匀，室温静置 2min 后，400nm 处测定吸光值 A，分别记为 A 测定、A 对照、A 标准、A 空白。计算ΔA 测定=A 测定-A 对照，ΔA 标准=A 标准-A 空白。每个测定管需设一个对照管。标准曲线和空白管只需测 1-2 次。			

β-GC 活力计算：

1. 标准曲线建立：根据标准管的浓度（x，nmol/mL）和吸光度（y，ΔA 标准），建立标准曲线。根据标准曲线，将ΔA（y，ΔA 测定）带入公式计算样本产物浓度 x（nmol/mL）。

2. 酶活力计算：

（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。

β-GC 活力(U/mg prot)=(x×V 反总)÷(V 样×Cpr)÷T=20x÷Cpr

需要另外测定，建议使用本公司 BCA 蛋白质含量测定试剂盒。

（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。

β-GC 活力(U/g 质量)=(x×V 反总)÷(W×V 样÷V 样总)÷T=20x÷W

（3）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。

β-GC 活力(U/10^4 cell)=(x×V 反总)÷(500×V 样÷V 样总)÷T=0.02x

注：Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL，蛋白浓度需要另外测定；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：样品质量，g；500：细胞或细菌总数，500 万；T：反应时间，0.5h。

注意事项：

提取液中含有使蛋白变性的成分，故按蛋白浓度计算时需要重新提取蛋白进行测定。