

## β-葡萄糖苷酶 (β-GC)活性检测试剂盒说明书

微量法

货号: AC10466

规格: 100T/48S

**产品组成: 使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致, 有疑问请及时联系本公司工作人员。**

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

溶液的配制:

- 1、试剂一: 临用前每瓶加入 12 mL 双蒸水, 充分溶解备用; 用不完的试剂仍-20°C保存;
- 2、标准品: 5 μmol/mL 的对硝基苯酚溶液。

**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。**

**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°C, 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°C, 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，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°C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°C，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 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。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。

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

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。

## 相关发表文献：

[1] Yu Qian, Jiale Song, Peng Sun, et al. Lactobacillus casei Strain Shirota Enhances the In Vitro Antiproliferative Effect of Geniposide in Human Oral Squamous Carcinoma HSC-3 Cells. *Molecules*. 2018;(IF3.06)

[2] Zhang Q A, Shi F F, Yao J L, et al. Effects of ultrasound irradiation on the properties of apricot kernels during accelerated debitterizing[J]. RSC Advances, 2020, 10(18): 10624-10633.

**参考文献:**

[1] Faria M L, Kolling D, Camassola M, et al. Comparison of *Penicillium echinulatum* and *Trichoderma reesei* cellulases in relation to their activity against various cellulosic substrates[J]. Biores. Technol, 2008, 99: 1417-1424.