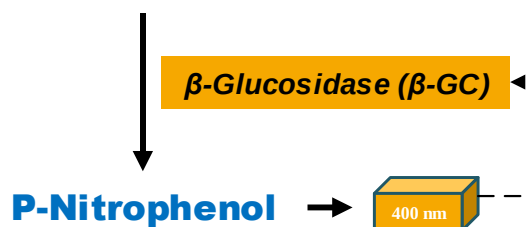




**β-葡萄糖苷酶 (β-GC) 活性检测试剂盒**

**β-Glucosidase (β-GC) Activity Assay Kit**

**p-Nitrophenyl β-D-glucopyranoside**



北京盒子生工科技有限公司  
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



## β-葡萄糖苷酶 (β-GC) 活性检测试剂盒

## β-Glucosidase (β-GC) Activity Assay Kit

### 一、产品描述

β-葡萄糖苷酶 (β-GC) 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-葡萄糖苷酶能够分解对-硝基苯-β-D-吡喃葡萄糖苷生成对-硝基苯酚，产物在 400 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征 β-葡萄糖苷酶的活性。

### 二、产品内容

| 名称                                                                     | 试剂规格          | 储存条件    | 使用方法及注意事项             |
|------------------------------------------------------------------------|---------------|---------|-----------------------|
| 提取液                                                                    | 液体 120 mL×1 瓶 | 4°C保存   | -                     |
| 试剂一                                                                    | 粉剂×2 瓶        | -20°C保存 | 使用前每瓶加入 10 mL 蒸馏水充分溶解 |
| 试剂二                                                                    | 液体 25 mL×1 瓶  | 4°C保存   | -                     |
| 试剂三                                                                    | 液体 15 mL×1 瓶  | 4°C保存   | -                     |
| 标准液                                                                    | 液体 1 mL×1 支   | 4°C保存   | 10 μmol/mL 对硝基苯酚标准液   |
| 标准稀释液的制备：将 10 μmol/mL 对硝基苯酚标准液使用蒸馏水稀释至 300、200、100、50、25、12.5 nmol/mL。 |               |         |                       |

| 序号              | A     | 1    | 2    | 3    | 4   | 5   | 6    |
|-----------------|-------|------|------|------|-----|-----|------|
| 稀释前浓度 (nmol/mL) | 10000 | 1000 | 1000 | 1000 | 100 | 50  | 25   |
| 标准液体积 (μL)      | 100   | 300  | 200  | 100  | 500 | 500 | 500  |
| 蒸馏水体积 (μL)      | 900   | 700  | 800  | 900  | 500 | 500 | 500  |
| 稀释后浓度 (nmol/mL) | 1000  | 300  | 200  | 100  | 50  | 25  | 12.5 |

### 三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

## 1.粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按细菌或细胞数量( $10^4$ 个)：提取液体积(mL)为(500-1000)：1的比例（建议1000万细菌或细胞加入1 mL提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率20%或200 W，超声3 s，间隔10 s，重复30次），4℃ 15000 g离心20 min，取上清置于冰上待测。

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0.2 g组织，加入1 mL提取液）处理样品，冰浴匀浆，4℃ 15000 g离心20 min，取上清置于冰上待测。

③血清（浆）、培养液等液体样本：直接检测或适当稀释后再进行检测。

## 2.测定步骤

①分光光度计/酶标仪预热30 min以上，调节波长至400 nm，蒸馏水调零。

②在离心管中依次加入下列试剂：

| 试剂                                                       | 测定组<br>( $\mu\text{L}$ ) | 对照组<br>( $\mu\text{L}$ ) | 标准组<br>( $\mu\text{L}$ ) | 空白组<br>( $\mu\text{L}$ ) |
|----------------------------------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 试剂一                                                      | 160                      | -                        | -                        | -                        |
| 试剂二                                                      | 200                      | 200                      | -                        | -                        |
| 粗酶液                                                      | 40                       | 40                       | -                        | -                        |
| 充分混匀，37℃准确反应30 min，立即放入沸水浴处理5 min<br>(密封以防止水分散失)，流水冷却至室温 |                          |                          |                          |                          |
| 试剂一                                                      | -                        | 160                      | -                        | -                        |
| 充分混匀，4℃ 8000 g离心5 min，取上清液                               |                          |                          |                          |                          |
| 在96孔板或微量玻璃比色皿中依次加入下列试剂                                   |                          |                          |                          |                          |
| 上清液                                                      | 60                       | 60                       | -                        | -                        |
| 标准稀释液                                                    | -                        | -                        | 60                       | -                        |
| 蒸馏水                                                      | -                        | -                        | -                        | 60                       |
| 试剂三                                                      | 120                      | 120                      | 120                      | 120                      |
| 充分混匀，室温静置2 min                                           |                          |                          |                          |                          |

**吸光值测定：**测定400 nm处吸光值，记为A测定、A对照、A标准和A空白；计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。注：每个测定组均需设一个对照组，空白组只需测定1-2次。

**标准曲线的建立：**以300、200、100、50、25、12.5 nmol/mL为横坐标(x)，以其对应的 $\Delta A$ 标准为纵坐标(y)绘制标准曲线，得到标准方程 $y = kx + b$ ，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入公式中得到x(nmol/mL)。

### 3. $\beta$ -葡萄糖苷酶 ( $\beta$ -GC) 活性计算

#### ①按组织样本蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每小时生成 1 nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\beta\text{-GC (U/mg prot)} = \frac{x \times V_{\text{反总}}}{V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}} \times T} = \frac{20 \times x}{C_{\text{pr}}}$$

#### ②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织在每小时生成 1 nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\beta\text{-GC (U/g)} = \frac{x \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{20 \times x}{W}$$

#### ③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 1 万个细菌或细胞每小时生成 1 nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\beta\text{-GC (U/10}^4\text{ cell)} = \frac{x \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{20 \times x}{\text{细菌或细胞数量}}$$

#### ④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每小时生成 1 nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活性单位。

$$\beta\text{-GC (U/mL)} = \frac{x \times V_{\text{反总}}}{V_{\text{样}} \times T} = 20 \times x$$

**注释：** V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.04 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积，0.4 mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细胞或细菌数量，以万计；T：反应时间，0.5 h。

### 四、注意事项

①若测定吸光值超出标准吸光值线性范围，建议适当增加样本量或将粗酶液适当稀释后再进行测定，计算时相应修改即可；

②为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

**For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.**

