

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号: E-BC-K822-M

产品规格: 48T(32 samples)/96T(80 samples)

检测仪器: 酶标仪(395-410 nm)

Elabscience® β -葡萄糖苷酶(β -GC)比色法测试盒

β -Glucosidase (β -GC) Activity Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话: 400-999-2100

邮箱: biochemical@elabscience.cn

网址: www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测动植物组织及真菌中的 β -葡萄糖苷酶(β -GC)的活力。

检测原理

β -葡萄糖苷酶(β -glucosidase, β -GC), 又被称作为 β -葡萄糖苷水解酶, 它能够高效水解各类糖苷化合物中结合于末端非还原性的 β -D-葡萄糖苷键, 从而释放出 β -D-葡萄糖和相应的配基。该酶在自然界中广泛存在, 各类植物的种子, 动物的小肠等器官以及微生物中都存在。

β -GC 是非常重要的工业用酶, 具有多方面的应用价值。在医学药物领域, β -GC 催化降解糖苷基因以抑制癌细胞的扩增; 在饮食方面, β -GC 可催化大豆中抗癌分子异黄酮的产生; 在能源领域, β -GC 是纤维素转化为葡萄糖的关键酶之一。

β -GC 催化底物反应生成显色物质在波长 400 nm 处有最大吸收, 通过测定 400 nm 处的 OD 值大小反映出 β -GC 酶活的大小。

本试剂盒检测动物组织样本时, 需测定总蛋白浓度, 推荐使用 BCA 法。(货号: E-BC-K318-M)。检测植物组织和真菌样本时, 需测定总蛋白浓度, 推荐使用考马斯亮蓝法。(货号: E-BC-K168-M)。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	提取液 (Extraction Solution)	50 mL×1 瓶	50 mL×2 瓶	-20°C 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	缓冲液 (Buffer)	25 mL×1 瓶	50 mL×1 瓶	-20°C 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	底物 (Substrate)	2.5 mL×1 瓶	5 mL×1 瓶	-20°C 避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	10 mmol/L 标准品溶液 (10 mmol/L Standard Solution)	1 mL×1 支	2 mL×1 瓶	-20°C 避光 保存 6 个月
	96 孔酶标板	1 板		
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：酶标仪(395-410 nm，最佳检测波长 400 nm)、37 °C 恒温箱

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温。

② 工作液的配制：

将试剂三:试剂二按体积比=1:4配制，避光待用，现配现用，当天使用有效。

③ 200 μmol/L标准品配制：

将试剂四:试剂二按体积比=1:49配制，避光待用，现配现用，当天使用有效。

④ 不同浓度标准品的稀释:

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度($\mu\text{mol/L}$)	0	40	60	80	120	140	160	200
200 $\mu\text{mol/L}$ 标准品(μL)	0	100	150	200	300	350	400	500
试剂二(μL)	500	400	350	300	200	150	100	0

样本准备

① 样本处理

组织样本匀浆: 按照组织样本质量(g): 试剂一体积(mL)=1: 9的比例匀浆, 4°C , $10000 \times g$ 离心10 min, 取上清置于冰上待测。留取部分上清用于蛋白浓度测定。

② 样本的稀释

在正式检测前, 需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验, 根据预实验的结果, 结合本试剂盒的线性范围: 0.06-6.79 U/L, 请参考下表稀释(仅供参考):

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
10%苹果籽	50-60	10%口蘑组织	不稀释
10%菠菜组织	不稀释	10%包菜组织	不稀释
10%香菇组织	3-5	10%小鼠小肠组织	不稀释
10%柚子籽	不稀释	10%雪梨籽	2-4
10%玉米组织	不稀释		

注: 稀释液为试剂一。

操作步骤

- ① 标准孔：取 200 μL 不同浓度的标准品溶液分别加入相应的酶标孔中；
测定孔：取 20 μL 待测样本加入相应的酶标孔中。
- ② 向步骤①中的测定孔加入 180 μL 工作液。
- ③ 振板 5 s，酶标仪 400 nm 波长下检测测定孔 OD 值 A_1 。37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min 后检测测定孔 OD 值 A_2 和标准孔的 OD 值。

操作表

	标准孔	测定孔
不同浓度的标准品溶液(μL)	200	--
待测样本(μL)	--	20
工作液(μL)	--	180
振板 5 s，酶标仪 400 nm 波长下检测测定孔 OD 值 A_1 。37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min 后检测测定孔 OD 值 A_2 和标准孔的 OD 值。		

本试剂盒检测动物组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用 BCA 法。(货号：E-BC-K318-M)。检测植物组织和真菌样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用考马斯亮蓝法。(货号：E-BC-K168-M)。

结果计算

标准品拟合曲线: $y = ax + b$

样本中 β -葡萄糖苷酶(β -GC)活力计算公式:

定义: 37℃ 条件下, 每克组织蛋白每分钟催化底物产生 1 μmol 的产物所需要的酶量为一个活力单位。

$$\beta\text{-GC 活力} = (\Delta A_{400} - b) \div a \div T \times f \div C_{\text{pr}} \times 10$$

(U/gprot)

注解:

y: 标准品 OD 值-空白 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x: 标准品的浓度

a: 标曲的斜率

b: 标曲的截距

ΔA_{400} : 样本的变化 OD 值 ($\Delta A_{400} = A_2 - A_1$)

T: 反应时间 30 min

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

C_{pr} : 待测样本的蛋白浓度, gprot/L

10: 待测样本加入到反应体系中, 蛋白浓度被稀释 10 倍

附录1 关键数据

1. 技术参数

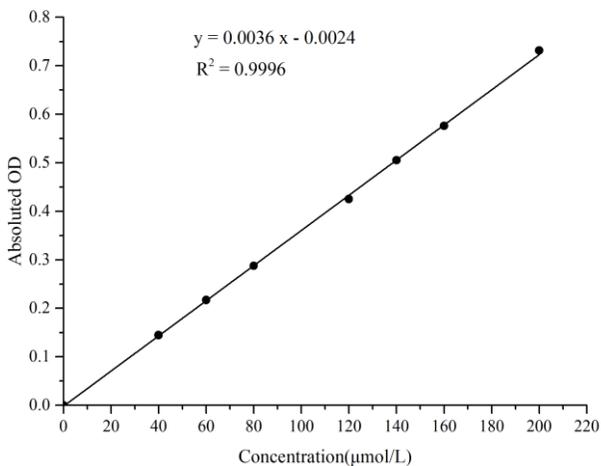
检测范围	0.06-6.79 U/L	批间差	2.0-9.7%
灵敏度	0.06 U/L	批内差	2.8-4.5%
稀释回收率	99-104%		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

① 不同浓度标准品加样量200 μL ，按照操作步骤进行实验，OD值如下表所示：

标准品浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	0	40	60	80	120	140	160	200
OD 值	0.050	0.193	0.267	0.338	0.476	0.557	0.627	0.782
	0.048	0.194	0.265	0.335	0.472	0.552	0.623	0.779
平均 OD 值	0.049	0.194	0.266	0.337	0.474	0.555	0.625	0.781
绝对 OD 值	0	0.145	0.217	0.288	0.425	0.506	0.576	0.732

② 绘制标曲(如下图)：



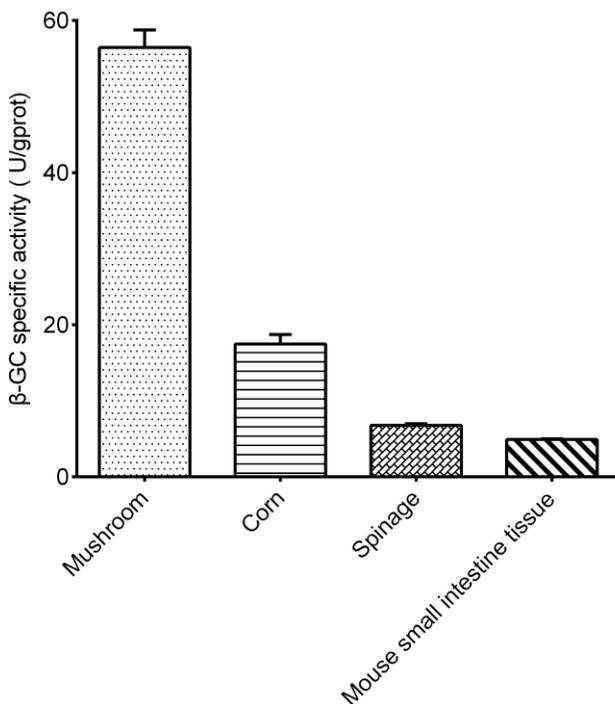
附录2 实例分析

例如小鼠小肠组织(数据仅供参考):

取10%小鼠小肠组织匀浆20 μL 加入到酶标板孔中,按操作表操作,结果如下:标准曲线: $y = 0.0036x - 0.0019$,测定的OD值 A_1 为0.240, A_2 为0.644, $\Delta A_{400} = A_2 - A_1 = 0.644 - 0.240 = 0.404$,测定出10%小肠组织匀浆的蛋白浓度为7.75 gprot/L计算结果为:

$$\beta\text{-GC活力(U/gprot)} = (0.404 + 0.0019) \div 0.0036 \div 30 \times 1 \div 7.75 \times 10 = 4.85 \text{ U/gprot}$$

按说明书操作,测定口蘑组织(10%组织匀浆蛋白浓度为0.69 gprot/L,加样量20 μL)、玉米组织(10%组织匀浆蛋白浓度为1.24 gprot/L,加样量20 μL)、菠菜组织(10%组织匀浆蛋白浓度为1.10 gprot/L,加样量20 μL)、小鼠小肠组织(10%组织匀浆蛋白浓度为7.75 gprot/L,加样量20 μL)中的 $\beta\text{-GC}$ 活力(如下图):



声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。

