

β -葡萄糖苷酶 (β -GC) 活性检测试剂盒 (微量法)

产品货号: BA1020

产品规格: 100管/48样

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。

产品组成:

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

溶液的配制:

试剂一: 临用前每瓶加入12mL双蒸水, 充分溶解备用; 用不完的试剂仍-20℃保存;

标准品: 5 μ mol/mL的对硝基苯酚溶液。

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℃, 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℃, 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100 μ L标准液, 加入到400 μ L试剂三中, 得到1 μ mol/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。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

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 ΔA (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。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com