

β-葡萄糖醛酸苷酶 (β-GD) 检测试剂盒 (微量法)

货号: PMK1195

保存: -20℃避光保存 6 个月

规格: 48T/96T

适用样本: 动物组织、细胞、细菌、血清、血浆、培养液等液体样本

产品简介

β-GD 广泛存在于动物组织中, 是一种参与肿瘤侵袭和转移过程的基质降解酶, 具有水解固醇葡萄糖醛酸和酸性粘多糖等生理功能。该酶在肝细胞中含量较高。此外在胃癌组织中含量丰富, 测定胃液 β-GD 活性对于研究胃癌具有重要的意义。本试剂盒提供了一种简单易用的比色法, 用于分析各种生物样品中 β-GD 的活性。其原理是 β-GD 催化苯酚 β-D-葡萄糖醛酸产生游离的酚酞, 通过测定产生酚酞的量来计算 β-GD 酶活性。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃保存
试剂一	1mL	2mL	4℃保存
试剂二	粉剂×1瓶	粉剂×1瓶	-20℃保存
试剂三	7.5mL	15mL	4℃保存
标准品	1mL	1mL	4℃保存

自备耗材

酶标仪或可见光分光光度计 (能测 540nm 处的吸光度) 及水浴锅
 96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头
 离心机、制冰机
 去离子水
 匀浆器 (如果是组织样本)

试剂准备

提取液: 即用型; 4℃保存。
 试剂一: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4℃保存。
 试剂二: 临用前加入 2mL 水, 充分溶解待用; 用不完的试剂分装-20℃保存。
 试剂三: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4℃保存。
 标准品: 含 1 μmol/mL 酚酞标准储备液, 使用前, 平衡到室温; 4℃保存。

样本制备

动物组织: 称取约 0.1g 样本, 加入 1mL 提取液冰浴匀浆, 8,000g, 4℃离心 10min, 取上清液置冰上待测。
 细胞或细菌: 收集 500 万细胞或细菌到离心管内, 用冷 PBS 清洗细胞, 离心后弃上清, 加入 1mL 提取液, 超声波破碎细胞或细菌 5min (功率 20%或 200W, 超声 3s, 间隔 7s, 重复 30 次), 8,000g, 4℃离心 10min, 取上清液置冰上待测。
 血清 (浆) 或培养液等液体样本: 直接测定, 根据预实验确定稀释倍数。
注意: 推荐使用新鲜样本, 如果不立即进行实验, 样本可在-80℃保存 1 个月。如需测定蛋白浓度, 推荐使用 BCA 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。提取液中含有蛋白成分, 浓度为 1mg/mL, 如按蛋白浓度计算需扣除提取液本身的蛋白浓度。

产品说明书

实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 540nm，可见分光光度计去离子水调零。
2. 样本测定：在 96 孔板或微量玻璃比色皿中依次加入下列试剂

	测定 (μL)	标准 (μL)	空白 (μL)
试剂一	20	20	20
试剂二	20	20	20
样本	10	0	0
标准品	0	10	0
去离子水	0	0	10
迅速混匀，放入 37℃ 准确水浴 30min			
试剂三	150	150	150

充分混匀，540nm 处测定吸光值 A，计算 $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ ， $\Delta A_{\text{标}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。空白和标准只需要测一次。

注意：1. 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 $\Delta A_{\text{测}}$ 小于 0.005 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 大于 1.0，样本可用去离子水进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数。

结果计算

样本 β-GD 活性计算

1. 按样本鲜重计算：

单位定义：每 g 组织在反应体系中每小时产生 1 μmol 酚酞定义为一个酶活性单位 U。

$$\beta\text{-GD (U/g 鲜重)} = C_{\text{标}} \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \times V_{\text{反应}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 10 \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \div W$$

2. 按液体样本体积计算

单位的定义：每 mL 液体样本在反应体系中每小时产生 1 μmol 酚酞定义为一个酶活性单位 U。

$$\beta\text{-GD (U/mL)} = C_{\text{标}} \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \times V_{\text{反应}} \div V_{\text{样}} \div T = 10 \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}})$$

3. 按细菌或细胞数量计算

单位的定义：每 1 万个细菌或细胞在反应体系中每小时产生 1 μmol 酚酞定义为一个酶活性单位 U。

$$\beta\text{-GD (U/10}^4 \text{ cell)} = C_{\text{标}} \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \times V_{\text{反应}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.02 \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}})$$

4. 按样本蛋白浓度计算：

单位定义：每 mg 组织蛋白在反应体系中每小时产生 1 μmol 酚酞定义为一个酶活性单位 U。

$$\beta\text{-GD (U/mg prot)} = C_{\text{标}} \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \times V_{\text{反应}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T = 10 \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \div C_{\text{pr}}$$

$C_{\text{标}}$ ：标准品浓度，1 μmol/mL； $V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积，0.05mL； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.01mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL； T ：反应时间，0.5h； W ：样本质量，g； C_{pr} ：样本蛋白质浓度，mg/mL；500：细胞或细菌总数，500 万。

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

- PMK1184 α-葡萄糖苷酶 (α-GC) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1185 β-葡萄糖苷酶 (β-GC) / 纤维二糖水解酶检测试剂盒 (微量法)
- PMK1186 α-半乳糖苷酶 (α-GAL) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1187 β-半乳糖苷酶 (β-GAL) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1174 血糖检测试剂盒 (微量法)



产品说明书

更多产品详情了解，请关注公众号：