

## β-葡萄糖苷酶检测试剂盒 (50T)

### 说明

β-葡萄糖苷酶可通过作用于末端非还原的 β(1→4)-连接的 D-葡萄糖残基来水解碳水化合物，同时释放 D-葡萄糖。生物体需要 β-葡萄糖苷酶来消化纤维素。溶菌酶，一种存在于泪液中的 β-葡萄糖苷酶，可作用于革兰氏阴性细菌的肽聚糖细胞壁中存在的 β(1→4)葡萄糖键，并有助于预防眼睛中的细菌感染。β-葡萄糖苷酶活性的缺失与戈谢病和帕金森病有关。在该检测中，β-葡萄糖苷酶活性通过 β-葡萄糖苷酶水解对硝基苯基-β-D-吡喃葡萄糖苷的反应来确定，该反应可形成比色(405 nm)产物，其与所存在的 β-葡萄糖苷酶活性成比例。一个单位的 β-葡萄糖苷酶表示在 pH 7.0 条件下，每分钟催化 1.0 μmole 底物水解所需的酶量。检测范围在 2 U/L 到 250 U/L 之间。

### 应用

直接检测生物样本中的 β-葡萄糖苷酶活性。

### 试剂盒组成与保存

缓冲液：6 mL (pH 7.0)	-20℃ 保存
底物试剂：0.5 mL	-20℃ 保存
校准液：5mL (相当于 250U/L)	-20℃ 保存

### 96 孔板检测步骤

该检测基于酶催化的动力学反应，推荐使用多管移液器。反应试剂需快速加入，溶液的混合应当短暂而彻底。检测过程可以在室温或 37℃ 条件下进行。

准备反应试剂：所有组分放置到室温。按每孔需 200μL 缓冲液、8μL α-NPG 底物试剂的比例，混合足量反应试剂。在室温下，反应试剂可以稳定至少一天，但仍推荐现用现配。

样品准备：酶样品可置于 50 mM (pH7.0)的磷酸盐缓冲液或其他合适的酶缓冲液中。以下化学物质会对酶活性有影响，应避免：如含有巯基的试剂（二硫苏糖醇，2-巯基乙醇和谷胱甘肽），Ca<sup>2+</sup>，Cu<sup>2+</sup>，Fe<sup>3+</sup>/Fe<sup>2+</sup>，Hg<sup>2+</sup>，Mg<sup>2+</sup>，Ni<sup>2+</sup>，Zn<sup>2+</sup>，SDS，EDTA 与三羟甲基氨基甲烷等。

1. 取透明平底 96 孔板，将 20 μL 蒸馏水 (H<sub>2</sub>O) 分别加入到两个孔中。向其中一孔内加入 200 μL 蒸馏水，另一孔中加入 200 μL 校准液（总量为 220 μL）。取 20 μL 样品加入到其它孔中，并在样品孔内加入 200 μL 工作试剂（总量为 220 μL）。轻拍使其混合。
2. 读取 OD<sub>405nm</sub> 值 (t = 0)，并在 20 分钟后再次读取该值 (t = 20 min)。

### 酶活性计算

样品的 β-葡萄糖苷酶活性 (U/L) 计算如下：

$$\beta\text{-葡萄糖苷酶活性} = \frac{OD_{20} - OD_0}{OD_{\text{校准液}} - OD_{H_2O}} \times 250 \quad (\text{U/L})$$

OD<sub>20</sub> 与 OD<sub>0</sub> 分别为样品在 0 分钟与 20 分钟时的 OD<sub>405nm</sub> 值。OD<sub>校准液</sub> 与 OD<sub>H<sub>2</sub>O</sub> 分别为校准液与 H<sub>2</sub>O 的 OD<sub>405nm</sub> 值。

单位定义：pH=7.0 时，1 单位酶每分钟可催化 1 μmole 的底物转化。

**预防措施：**本产品仅供研究用，使用过程中应严格遵循实验安全措施。

