

β-葡萄糖醛酸苷酶（β-glucuronidase, β-GD）试剂盒说明书

微量法 100管/96样

正式测定前务必取2-3个预期差异较大的样本做预测定

测定意义：

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。

测定原理：

β-GD催化苯酚 β-D-葡萄糖醛酸产生游离的酚酞，通过测定苯酚含量反应该酶活性高低。

自备仪器和样品：

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、微量石英比色皿/96孔板、研钵、冰和蒸馏水。

试剂的组成和配制

提取液：液体100mL×1瓶，4℃保存；

试剂一：液体2mL×1瓶，4℃保存；

试剂二：粉剂×1瓶，-20℃保存；临用前加入2mL蒸馏水，充分溶解待用；用不完的试剂仍-20℃保存；

试剂三：液体15mL×1瓶，4℃保存；

试剂四：1μmol/mL标准储备液10mL，4℃保存；

样品测定的前处理

按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为1：5~10的比例（建议称取约0.1g组织，加入1mL提取液），进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心10min，取上清，置冰上待测。

测定步骤

1、分光光度计预热30min以上，调节波长至540nm，蒸馏水调零。

2、样本测定

试剂名称（μL）	加样孔		
	测定管	标准管	空白管
试剂一	20	20	20
试剂二	20	20	20
样本	10		
1 μ mol/mL标准液		10	

蒸馏水			10
-----	--	--	----

混匀后，37°C反应30min

试剂三	150	150	150
-----	-----	-----	-----

混匀，540nm下测定各管吸光值

注意：标准管和空白管只需测一次。

β-葡萄糖醛酸苷酶（β-glucuronidase, β-GD）试剂盒说明书β-GD活性计算

(1) 按样本鲜重计算：

单位定义：每小时每g鲜重样品中催化产生 1μmol酚酞的量为一个活力单位。

$$\beta\text{-GD} (\mu\text{mol/h/g 鲜重}) = (\text{C标准管} \times \text{V1}) \times (\text{A测定管} - \text{A空白管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管}) \div (\text{W} \times \text{V1} \div \text{V2}) \div \text{T} = 2 \times (\text{A测定管} - \text{A空白管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管}) \div \text{W}$$

(2) 按样本蛋白浓度计算：

单位定义：每小时每mg组织蛋白催化产生 1μmol酚酞的量为一个活力单位。

$$\beta\text{-GD} (\mu\text{mol/h/mg prot}) = (\text{C标准管} \times \text{V1}) \times (\text{A测定管} - \text{A空白管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管}) \div (\text{V1} \times \text{Cpr}) \div \text{T} = 2 \times (\text{A测定管} - \text{A空白管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管}) \div \text{Cpr}$$

C标准管：标准管浓度，1μmol/mL；V1：加入样本体积：0.01mL；V2：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，0.5h；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本鲜重，g。