

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。

需自备的仪器和用品

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；

试剂四：1 μmol/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 μmol/mL 标准液		10	
蒸馏水			10

混匀后，37℃ 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-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 1 μ mol 酚酞的量为一个活力单位。

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

(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 1 μ mol 酚酞的量为一个活力单位。

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

C 标准管: 标准管浓度, 1 μ mol/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。