

β-葡萄糖醛酸苷酶 (β-GD) 测定试剂盒说明书

(A053-1-1 测内源型 比色法)

一、测定原理:

β-葡萄糖醛酸苷酶 (β-Glucuronidase, β-GD) 作用于专一性底物释放出游离的酚酞, 用比色法测定游离酚酞的量表示酶的活力。

二、试剂的组成和配制 (50T/48 样):

试剂一: 粉剂×3 支; 临用前每支粉剂中加入 1.0mL 的试剂二 (内源性), 充分混匀后-20℃以下保存;

试剂二 (内源性): 液体 15mL×1 瓶; 4℃保存;

试剂三: 液体 100mL×1 瓶; 4℃保存

试剂四: 1μmol/mL 酚酞标准 1mL×1 支; 4℃避光保存。

三、操作过程:

1、前处理:

10%组织匀浆上清液的制备: 准确称取组织重量, 按重量 (g): 体积 (mL) =1: 9 的比例, 加入 9 倍体积的生理盐水, 冰水浴条件下机械匀浆, 2500 转/分, 离心 10 分钟, 取上清液进行测定。

2、操作表:

	空白管	标准管	测定管
双蒸水 (mL)	0.05		
1μmol/mL 酚酞标准 (mL)		0.05	
待测样本 (mL)			0.05
试剂一 (mL)	0.05	0.05	0.05
试剂二 (mL)	0.20	0.20	0.20
混匀后, 37℃水浴 1 小时 (准确计时)			
试剂三 (mL)	2.0	2.0	2.0

混匀后, 3500 转/分, 离心 10 分钟, 取上清, 540nm 处, 1cm 光径, 双蒸水调零, 测定各管的吸光度值。

四、单位定义和计算公式:

1、定义: 每毫克组织蛋白在 37℃条件下, 每分钟能催化生成 1μmol 的酚酞的酶量就是 1 个酶活力单位。

2、计算公式:
$$\beta\text{-GD的活力} \frac{\text{测定OD值}-\text{空白OD值}}{\text{标准OD值}-\text{空白OD值}} \times \frac{\text{标准管品浓度}}{(1\mu\text{mol/ml})} \div \frac{\text{反应时间}}{(60\text{分钟})} \div \frac{\text{待测样本蛋白浓度}}{(\text{mgprot/ml})}$$