

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

分光光度法 50 管/48 样

注 意：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、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

试剂的组成和配制：

提取液：液体 60mL×1 瓶，4℃保存；

试剂一：液体 5mL×1 瓶，4℃保存；

试剂二：粉剂×1 瓶，-20℃保存；临用前加入 5mL 蒸馏水，充分溶解待用；用不完的试剂仍-20℃保存；

试剂三：液体 37.5mL×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（在 EP 管中加入下列试剂）

试剂名称 (μL)	加样孔		
	测定管	标准管	空白管
试剂一	100	100	100
试剂二	100	100	100
样本	50		
1 μ mol/mL 标准液		50	
蒸馏水			50

混匀后，37℃水浴 30min

试剂三	750	750	750
-----	-----	-----	-----

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 1μmol 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 1μmol 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, 1μmol/mL; V1: 加入样本体积: 0.05mL; 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。