

β-葡萄糖醛酸苷酶（外源性）测定试剂盒说明书(精简版)

（货号：A053-4-1 β-Glucuronidase（β-GD） 测外源型 微板法 96T）

免责声明：测试前请仔细阅读说明书,预试后再进行批量实验, 否则由此导致的后果用户自行承担!

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：（试剂盒有效期 3 个月）

- 试剂一：粉剂×1 支，-20℃以下保存；临用前往粉剂中加入 1mL 的试剂二（外源性），充分混匀溶解(-20℃以下保存)；
- 试剂二（外源性）：液体 6mL×1 瓶；4℃保存；
- 试剂三：液体 40mL×1 瓶；4℃保存；
- 试剂四：标准品粉剂×1 支，4℃避光保存；标准品溶剂 5mL×1 瓶，4℃保存；用时将一支标准品粉剂加 1mL 标准品溶剂溶解配成 10μmol/mL 酚酞标准液，充分混匀 4℃保存；再将 10μmol/mL 酚酞标准液用标准品溶剂 5 倍（1:4）稀释配成 2μmol/mL 酚酞标准液，现用现配。

三、所需仪器耗材及试剂：

含 540nm 波长的酶标仪及 96 孔板、37℃水浴锅或恒温箱、台式离心机、各种规格移液器、双蒸水、生理盐水（0.9%）或 PBS（0.1M）、涡旋混匀器、试管或离心管、蛋白测定试剂（组织及细胞样本用，本公司有售）。

四、操作过程：

- 1、前处理：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，低温(0-4℃)条件下匀浆，4000 转/分，离心 10 分钟，取上清液待测。

2. 操作表：（可在 0.5ml 或 1.5ml 离心管中进行）

	空白管	标准管	测定管
双蒸水（μL）	10		
2μmol/mL 酚酞标准（μL）		10	
组织匀浆（μL）			10
试剂一（μL）	10	10	10
试剂二（μL）	40	40	40
混匀，37℃反应 1 小时			
试剂三（μL）	400	400	400
混匀，8000 转/分，离心 10 分钟，每管取上清 200μL 加到 96 孔板中，540nm 处，酶标仪测定各孔吸光度值 A			

五、计算公式及举例：

- 1、单位定义：每毫克组织蛋白在 37℃条件下，每分钟催化反应生成 1μmol 的酚酞的酶量为 1 个酶活力单位（U）。

2、计算公式：

$$\beta - GD \text{活力} \left( \text{U/mgprot} \right) = \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}}{A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}} \times C_{\text{标准}} \div T \div C_{\text{pr}}$$

C<sub>标准</sub>:标准液浓度, 2μmol/mL;

T: 反应时间, 60min;

C<sub>pr</sub>: 样本蛋白浓度, mgprot/mL（prot 指蛋白）。

六、测定意义：

β-葡萄糖醛酸苷酶广泛存在于机体组织中，除肝、脾、肾上腺外，胃肠道粘膜含量也较丰富，它具有水解固醇葡萄糖醛酸和酸性粘多糖的生理功能。胃癌组织内此酶活力要显著高于十二指肠溃疡的胃组织，胃癌组织内此酶含量丰富，主要分布于癌细胞内；胃癌患者胃粘膜表面覆盖着具有此酶强活力的膜状物。这样当含丰富酶的癌细胞破碎时，胞浆中此酶即进入胃液。测定胃液 β-葡萄糖醛酸苷酶活力对于研究胃癌有重要的意义。