

## 植物β-葡萄糖苷酶(BG)检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PMHB3-C24	植物β-葡萄糖苷酶 (BG)试剂盒	24T	常量法
PMHB3-C48		48T	

### 一、测定意义：

植物β-葡萄糖苷酶参与多种生理和代谢过程，如细胞壁合成与分解、次生代谢物的生成以及植物对逆境的响应。通过测定其活性，可以深入了解植物的生长发育状态、抗逆能力及代谢调控机制，为作物育种、抗逆性研究及生物技术应用提供重要依据。

### 二、测定原理：

底物在β-葡萄糖苷酶作用下水解，释放出游离的对硝基酚。加入碱性溶液停止反应，并使对硝基酚显色。在 400nm 处测吸光度，可计算酶活力。

### 三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(24T)	试剂装量(48T)	保存条件
提取液	液体 30mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 30mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×2 瓶	-20℃保存
试剂二的配制：用时每瓶粉剂加入试剂一 6mL，混匀充分溶解，-20℃分装保存 1 个月。			
试剂三	液体 30mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品 (1mg/mL)	液体 1mL×1 支	液体 1mL×2 支	2-8℃保存

### 四、操作步骤：

#### 样本前处理

取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，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），旋涡混匀抽提 3-5 分钟或者使用组织破碎仪冰浴提取，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 400nm，蒸馏水调零。
- 2、测定前将试剂恢复至常温；
- 3、将 1mg/mL 标准品用蒸馏水依次稀释至 0、10、20、40、60、80、100μg/mL，备用；
- 4、操作表（在离心管中加入以下试剂）：

试剂名称	测定管	对照管	空白管	标准管
样品（μL）	50	50	-	-
蒸馏水（μL）	-	-	50	-
标准品（μL）	-	-	-	50
试剂一（μL）	400	400	400	400
试剂二（μL）	100	-	100	100
混匀，37℃孵育 30min。				
试剂三（μL）	500	500	500	500
试剂二（μL）	-	100	-	-
混匀，静置 3min，空白管调零，于波长 400nm 测定各管吸光度，分别记为 A <sub>测定</sub> ，A <sub>对照</sub> ，A <sub>标准</sub> ，A <sub>空白</sub> ，计算ΔA <sub>测定</sub> =A <sub>测定</sub> -A <sub>对照</sub> ，ΔA <sub>标准</sub> =A <sub>标准</sub> -A <sub>空白</sub> 。				

#### 五、β-葡萄糖苷酶(AG)活性计算：

- 1、标准曲线绘制：以吸光度值为横坐标，标准品浓度为纵坐标，绘制标准曲线  $y=kx+b$ ，x 为吸光度值，y 为标准品浓度（μmol/mL）。根据标准曲线，将ΔA<sub>测定</sub>带入公式计算出样本浓度（y，μmol/mL）；
- 2、按样本质量计算：

**单位定义：**每克组织每小时催化产生 1μg 对硝基酚的量为一个活力单位。

**计算公式：** BG (U/g) =  $y \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 2y \div W$

### 3、按蛋白浓度计算：

**单位定义：**每毫克蛋白每小时催化产生 1 $\mu$ g 对硝基酚的量为一个活力单位。

**计算公式：** BG (U/mg prot) =  $y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 2y \div \text{Cpr}$

$V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.05mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1 mL；T：反应时间，30 min=0.5h；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量 g。

### 六、注意事项：

- 1、比色时，溶液呈现淡黄色，在 2h 内保持稳定。
- 2、不同植物样本的 $\beta$ -葡萄糖苷酶差异较大，根据样本活性可以适当增加或者减少称取样本重量，也可增加反应时间。
- 3、实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

#### 【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

#### 【售后微信】



#### 【说明书核准及修改日期】

核准日期：2025 年 4 月 7 日

修改日期：2025 年 4 月 7 日

