

## β-葡萄糖苷酸酶（β-GUS）活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PMHG6--C24	β-葡萄糖苷酸酶检测试剂盒	24T	常量法
PMHG6--C48		48T	

### 一、测定意义：

β-葡萄糖苷酸酶（β-GUS）是一种分布广泛的水解酶。在动物和微生物中都有分布；但在绝大多数植物细胞和许多细菌及真菌内不存在内源 GUS 活性，因而 GUS 基因广泛用作转基因植物、细菌和真菌的报告基因。

### 二、测定原理：

β-葡萄糖苷酸酶（β-GUS）水解对硝基酚-D-葡萄糖醛酸苷生成对硝基酚（PNP），通过检测该产物在 405nm 处的增加速率即可得出β-GUS 酶活性大小。

### 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
<b>试剂二配制：</b> 用时每瓶粉剂加入试剂一 6mL，混匀充分溶解。			
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）处理样品，室温研磨至匀浆，4℃ 10000 g 离心 10 min，取

上清即为粗酶液，置于冰上待测。

### 测定步骤

- 1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 405nm，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、样本测定（在玻璃比色皿中依次加入下列试剂）：

试剂名称	测定管	对照管	标准管	空白管
样本（μL）	50	50	-	-
蒸馏水（μL）	-	-	-	50
标准液（μL）	-	-	50	-
试剂一（μL）	400	400	400	400
试剂二（μL）	100	-	100	100
充分混匀，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 405nm 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 $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{对照}$ ， $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白}$ 。				

### 五、β-葡萄糖苷酸酶活性测定：

- 1、标准曲线的建立：根据标准管的浓度（y，mg/mL）和吸光度  $\Delta A_{标准}$ （x， $\Delta A_{标准}$ ），建立标准曲线。根据标准曲线，将  $\Delta A_{测定}$ （x， $\Delta A_{测定}$ ）带入公式计算样本浓度（y，mg/mL）。

- 2、按样本蛋白浓度计算

**单位定义：**每毫克组织蛋白每分钟催化产生 1μg 对硝基酚的量为一个活力单位。

**计算公式：** $\beta\text{-GUS (U/mg prot)} = y \times V_{\text{样}} \div (Cpr \times V_{\text{样}}) \div T = 0.033 \times y \div Cpr$

- 3、按样本质量计算

**单位定义：**每克组织每分钟催化产生 1 $\mu$ g 对硝基酚的量为一个活力单位。

**计算公式：** $\beta$ -GUS (U/g) =  $y \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.033 \times y \div W$

$V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.05mL； $V_{\text{样总}}$ ：粗酶液总体积，1 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；T：反应时间：30 min。

## 六、 注意事项：

- 1、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；
- 2、为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

## 【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