

FUJIFILM

Wako

Code No. 078-04241 (2 mL)
074-04243 (5 mL)
072-04244 (10 mL)

β -Glucuronidase Solution

β -グルクロニダーゼ溶液

Source : *Helix pomatia*
Appearance : Clear to brown liquid
Activity : Indicated on the label
Optimal pH : 5.0
Optimal temperature : 37 °C

Assay method

1. Principle

Phenolphthalein- β -D-glucuronide + H₂O

$\xrightarrow{\beta\text{-Glucuronidase}}$ Phenolphthalein + β -D-Glucuronide

2. Reagents needed

- 0.1 mol/L Sodium Acetate buffer, pH 5.0
- Substrate solution
Dissolve 15 mg of Phenolphthalein- β -D-glucuronide Sodium Salt with water and bring the volume up to 25 mL.
- 0.2 mol/L Glycine buffer solution
Dissolve 1.5 g of Glycine with 80 mL of water, adjust to pH 10.4 with 1 mol/L NaOH, and then add water to bring the volume up to 100 mL.
- Dissolve 0.1 g of Sodium Chloride with water and bring the volume up to 50 mL.
- β -Glucuronidase solution
Transfer 0.1 mL of this vial by micropipette, and dilute with Reagent D and bring the volume up to 25 mL.
- Dissolve 2.5 g of Trichloroacetic acid with water and bring the volume up to 50 mL.
- Ethanol (95)
- Phenolphthalein standard solution
Carefully weigh out 5 mg of the phenolphthalein and dissolve with Reagent G and bring the volume up to 10 mL.

- 1/3 -

試薬

- 0.1 mol/L 酢酸ナトリウム緩衝液, pH 5.0
- 基質溶液
フェノールフタレイン- β -D-グルクロニドナトリウム 15 mg を水に溶かし、25 mL にする。
- 0.2 mol/L グリシン溶液, pH 10.4
グリシン 1.5 g を水 80 mL に溶かし、1 mol/L 水酸化ナトリウムで pH 10.4 に調節後、水で 100 mL にする。
- 塩化ナトリウム 0.1 g を水に溶かし、50 mL にする。
- 酵素溶液
本品 0.1 mL をマイクロピペットを用いて量り取り、D 液を加え 25 mL にする。
- トリクロロ酢酸 2.5 g を水に溶かし、50 mL にする。
- エタノール (95)
- フェノールフタレイン標準液
フェノールフタレイン 5 mg を正確に量り取り、G 液を加え 10 mL にする。

3. Procedure

1) Test

Reagent	Test	Blank
A	0.7 mL	0.7 mL
B	0.7 mL	0.7 mL
Pre-incubate at 37 °C 37 °C 予備加温		
E	0.1 mL	—
Incubate at 37 °C for exactly 30 min 37 °C で正確に 30 分間加温		
F	1.0 mL	1.0 mL
C	5.0 mL	5.0 mL
E	—	0.1 mL
Measure the absorbance at 540 nm of wavelength with the blank solution as control. 波長 540 nm における吸光度を空試験液を対照液として測定。		

2) Preparation of standard curve

Reagent	Standard 1	Standard 2	Standard 3	Standard 4	Standard 5
A	0.7 mL	0.7 mL	0.7 mL	0.7 mL	0.7 mL
B	0.7 mL	0.7 mL	0.7 mL	0.7 mL	0.7 mL
G	0.07 mL	0.05 mL	0.03 mL	—	0.1 mL
H	0.03 mL	0.05 mL	0.07 mL	0.1 mL	—
F	1.0 mL	1.0 mL	1.0 mL	1.0 mL	1.0 mL
C	5.0 mL	5.0 mL	5.0 mL	5.0 mL	5.0 mL
Measure the absorbance in 540 nm of wavelength with the blank solution as control and prepare a standard curve. 波長 540 nm における吸光度を空試験液を対照液として測定し、検量線を作成する。					

- 2/3 -

4. Unit definition

One unit is the amount of enzyme which will liberate 1 μg of phenolphthalein from Phenolphthalein- β -D-glucuronide per hour at pH 5.0 and 37 °C under the above conditions.

(Calculation)

$$\text{units/mL} = a \times \frac{1}{0.0004} \times \frac{60}{30}$$

a : The released phenolphthalein (μg)

0.0004 : The product volume used in reaction (mL)

単位の定義

前記の条件下、pH 5.0、37 °C で 1 時間にフェノールフタレイン- β -D-グルクロニドナトリウムからフェノールフタレイン 1 μg を遊離させる酵素量を 1 unit とする。

(計 算)

$$\text{units/mL} = a \times \frac{1}{0.0004} \times \frac{60}{30}$$

a : 検量線から求めたフェノールフタレインの量 (μg)

0.0004 : 反応に用いた本品量 (mL)

〔Storage〕 Store at 2 - 10 °C

〔Package〕

Code No.	Packaging
078-04241	2 mL
074-04243	5 mL
072-04244	10 mL

FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation

1-2, Doshomachi 3-Chome, Chuo-Ku, Osaka 540-8605, Japan
Telephone : + 81-6-6203-3741
Facsimile : + 81-6-6201-5964
<http://fwk.fujifilm.co.jp>

FUJIFILM Wako Chemicals U.S.A. Corporation

1600 Bellwood Road
Richmond, VA 23237
U.S.A.
Telephone : + 1-804-271-7677
Facsimile : + 1-804-271-7791
<http://www.wakousa.com>

FUJIFILM Wako Chemicals Europe GmbH

Fuggerstrasse 12
D-41468 Neuss
Germany
Telephone : + 49-2131-3111-0
Facsimile : + 49-2131-311100
<http://www.wako-chemicals.de>

2306KA2