

β -1,3-葡萄糖聚糖 (β -1,3-GA) 活性检测试剂盒 (微量法)

产品货号: BA1022

产品规格: 100管/48样

产品说明:

β -1,3-GA (EC 3.2.1.73) 主要存在植物中, 催化 β -1,3-葡萄糖苷键水解。在植物染病或处于其他逆境条件下, 可诱导细胞大量合成 β -1,3-GA, 因此 β -1,3-GA活性测定广泛应用于植物病理和逆境生理研究。 β -1,3-GA水解昆布多糖, 内切 β -1,3-葡萄糖苷键, 产生还原末端, 通过测定还原糖生成速率, 来计算其酶活性。

注意: 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。

产品组成:

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体100mL×1瓶	4℃
试剂一	粉剂×1瓶	4℃
试剂二	液体30mL×1瓶	4℃
标准品	粉剂×1支	4℃

溶液的配制:

- 试剂一: 临用前加3.5mL蒸馏水溶解, 用不完的试剂4℃保存;
- 标准品: 10mg无水葡萄糖, 临用前加入1mL蒸馏水溶解, 配制成10mg/mL葡萄糖溶液备用, 4℃可保存1周。

需自备的仪器和用品:

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅、移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

操作步骤:

一、样本处理 (可适当调整待测样本量, 具体比例可以参考文献)

- 组织: 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。12000g, 4℃离心10min, 取上清, 置冰上待测。
- 细菌或细胞: 收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 按照每500万细菌或细胞加入1mL提取液, 超声波破菌碎细或细胞 (功率20%, 超声3s, 间隔10s, 重复30次); 12000g 4℃离心10min, 取上清, 置冰上待测。

二、测定步骤

- 分光光度计或酶标仪预热30min以上, 调节波长至540nm, 蒸馏水调零。
- 标准品的准备: 将标准品用蒸馏水稀释至1、0.8、0.6、0.4、0.2mg/mL。
- 样本测定, (在1.5mL EP管中依次加入下列试剂)

试剂名称 (μ L)	测定管	对照管	标准管	空白管
样本	35	35	-	-
标准液	-	-	35	-
双蒸水	-	35	35	70



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

试剂一	35	-	-	-
充分混匀，放入37℃水浴60min				
试剂二	230	230	230	230

充分混匀，沸水浴5min（盖紧，防止水分散失），流水冷却，取200 μ L至微量玻璃比色皿或96孔板中，540nm处记录各管吸光值A，如果吸光值大于2，可以用提取液对样本稀释后测定， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。

三、 β -1,3-GA活性计算

1. 标准曲线的建立：

根据标准管吸光度 x（A标准管-A空白管）和浓度（y，mg/mL）建立标准曲线，将 ΔA 带入公式中计算出样本中产生的还原糖的含量y值（mg/mL）。

2. β -1,3-GA活性计算：

(1) 按蛋白浓度计算

单位的定义：每mg组织蛋白每小时产生1mg还原糖定义为一个酶活性单位。

$$\beta\text{-1,3-GA(U/mg prot)} = (y \times V1) \div (V1 \times Cpr) \div T = y \div Cpr$$

(2) 按样本质量计算

单位的定义：每g组织每小时产生1mg还原糖定义为一个酶活性单位。

$$\beta\text{-1,3-GA(U/g 质量)} = (y \times V1) \div (W \times V1 \div V2) \div T = y \div W$$

(3) 按细菌或细胞数量计算

单位的定义：每1万个细胞或细菌每小时产生1mg还原糖定义为一个酶活性单位。

$$\beta\text{-1,3-GA(U}/10^4\text{cell)} = (y \times V1) \div (500 \times V1 \div V2) \div T = 0.002 \times y$$

V1：加入反应体系中样本体积，0.035mL；V2：加入提取液体积，1mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；T：反应时间，60min=1h；500：细菌或细胞总数，500万。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com