

β-1,3葡聚糖酶(β-1,3-GA)活性检测试剂盒（可见分光光度法）

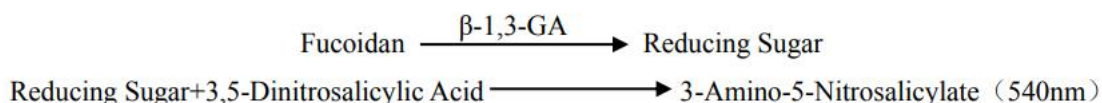
产品货号：BA1931

产品规格：50T/24S

产品简介：

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50mL×1瓶	2-8℃
试剂一	粉剂×2支	2-8℃
试剂二	液体42mL×1瓶	2-8℃
标准品	粉剂×1支	2-8℃

溶液的配制：

1. 试剂一：临用前取1支加1.6mL蒸馏水溶解，用不完的试剂2-8℃保存4周；
2. 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，2-8℃保存2周。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、台式离心机、水浴锅/恒温培养箱、可调式移液器、1mL玻璃比色皿、研钵/匀浆器、超声破碎仪、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）

1. 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。
2. 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，超声破碎细菌或细胞（功率200w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

1. 分光光度计预热30min以上，调节波长至540nm，蒸馏水调零。
2. 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。
3. 标准品稀释表。



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

序号	稀释前浓度 (mg/mL)	标准液体积 (μL)	蒸馏水体积 (μL)	稀释后浓 (mg/mL)
1	10	100	900	1
2	1	160	40	0.8
3	1	120	80	0.6
4	1	80	120	0.4
5	1	40	160	0.2

实验中每个标准管需100μL标准溶液。

4. 样本测定 (在1.5mL EP管中依次加入下列试剂) :

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	标准管	空白管
样本	100	100	-	-
标准液	-	-	100	-
蒸馏水	-	100	100	200
试剂一	100	-	-	-
充分混匀, 放入37°C水浴60min。				
试剂二	600	600	600	600

充分混匀, 沸水浴5min (盖紧, 防止水分散失), 流水冷却, 540nm处记录各管吸光值A, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。每个测定管需设一个对照管。标准曲线和空白管只需做1-2次。

如果吸光值大于2, 可以用提取液对样本稀释后测定 (计算公式乘以相应稀释倍数)。

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 ($A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$) 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, 0.1mL; 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, 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