

β -1,3 葡聚糖酶 (β -1,3-glucanase, β -1,3-GA) 试剂盒 (可见分光光度法)

产品货号: BA1021

产品规格: 50管/24样

产品内容:

提取液: 液体50mL×1瓶, 4℃保存;

试剂一: 粉剂×1瓶, 4℃保存; 临用前每瓶加入3mL蒸馏水, 充分溶解待用; 用不完的试剂4℃保存;

试剂二: 液体42mL×1瓶, 4℃保存;

标准品: 粉剂×1支, 4℃保存, 含10mg无水葡萄糖(干燥失重<0.2%), 临用前加入1ml蒸馏水溶解, 配制10mg/ml葡萄糖溶液备用, 4℃可保存1周, 或者用饱和苯甲酸溶液溶解, 可保存更长时间。

标准品准备: 将标准品用蒸馏水稀释至1、0.8、0.6、0.4、0.2mg/ml。

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。

需自备的仪器和用品:

可见分光光度计、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、1mL玻璃比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

操作步骤:

一、粗酶液提取:

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, 超声波破碎细菌或细胞(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:

1、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。

2、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	100	100		
标准液			100	
蒸馏水		100	100	200
试剂一	100			
充分混匀, 放入37℃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, 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), $\Delta A = A_{测定} - A_{对照}$ 。每个测定管需设一个对照管。				



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

β-1,3-GA 活性计算:

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品中产生的还原糖的含量y值 (mg/mL)

(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。

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

(2) 按样本鲜重计算

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。

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

(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。

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

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: 样本鲜重, g; 500: 细菌或细胞总数, 万。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com