

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:

1. 试剂一: 临用前加3.5mL蒸馏水溶解,用不完的试剂4℃保存;
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,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)

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,超声波破菌碎细胞 (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. 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. 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	35	35	-	-
标准液	-	-	35	-
双蒸水	-	35	35	70
试剂一	35	-	-	-



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

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

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