

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)

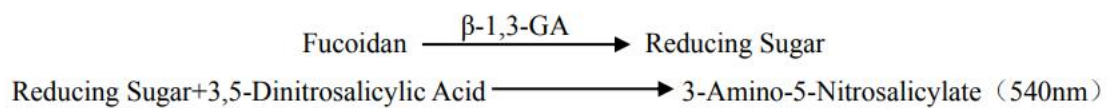
产品货号: BA1931

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、超声波破碎仪、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,超声波破碎细菌或细胞(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

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

QQ: 807961520 731791866

邮箱: zzybio@126.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℃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, 0.1mL; 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

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