

β-1,3葡聚糖酶(β-1,3-GA)活性检测试剂盒（微量法）

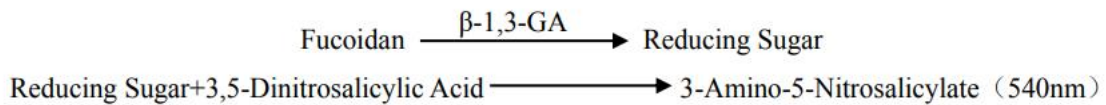
产品货号：BA1932

产品规格：100T/48S

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100mL×1瓶	2-8℃
试剂一	粉剂×2支	2-8℃
试剂二	液体30mL×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1mL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/酶标仪、台式离心机、水浴锅/恒温培养箱、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、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. 分光光度计或酶标仪预热30min以上，调节波长至540nm，分光光度计蒸馏水调零。
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。

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



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：zzlybio@126.com

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35 μ L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（ μ L）	测定管	对照管	标准管	空白管
样本	35	35	-	-
标准液	-	-	35	-
蒸馏水	-	35	35	70
试剂一	35	-	-	-
充分混匀，放入37 $^{\circ}$ C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处记录各管吸光度A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。空白管和标准曲线只需做1-2次。

如果吸光度大于2，可以用提取液对样本稀释后测定。

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，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