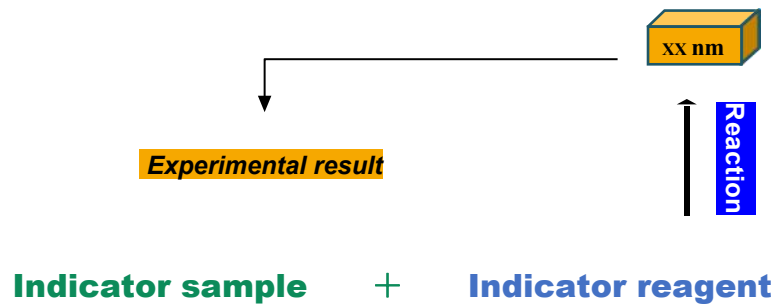


上海茁彩生物科技有限公司  
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

## β-1,3 葡聚糖酶 (β-1,3-GA) 活性检测试剂盒说明书

### 微量法

**注意：正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。**

#### 产品内容

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂一	粉剂×1 瓶	4℃保存	临用前每瓶加入 3.5mL 双蒸水，充分溶解待用
试剂二	液体 30mL×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，配制成 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。

#### 自备仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅、移液器、微量石英比色皿/96 孔板、研钵、冰和蒸馏水。

#### 操作步骤：

##### 一、粗酶液提取：

称取约 0.2g 组织，剪碎，放入预冷的研钵中，加入 1.0 mL 提取液进行冰浴匀浆，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 (μL)	测定管	对照管	标准管
样本或标准液	35	35	35
双蒸水		35	35
试剂一	35		
充分混匀，放入 37°C 水浴 60 min			
试剂二	230	230	230

充分混匀，95°C 水浴 5min（盖紧，防止水分散失），流水冷却，取 200 μL 至微量石英比色皿或 96 孔板中，540nm 处记录各管吸光值 A，如果吸光值大于 2，可以用蒸馏水稀释后测定， $\Delta A = A - A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。

### $\beta$ -1,3-GA 活性计算：

根据标准管吸光度 (x) 和浓度 (y, mg/ml) 建立标准曲线，将  $\Delta A$  带入公式中计算出样品中产生的还原糖的含量 y 值 (mg/ml)

#### a. 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。

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

#### b. 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) 按细菌或细胞密度计算

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。

$$\beta\text{-1,3-GA (U /g 鲜重)} = (y \times V1) \div (500 \times V1 \div V2) = 0.002 \times y$$

V1: 加入反应体系中样本体积，0.035mL；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。