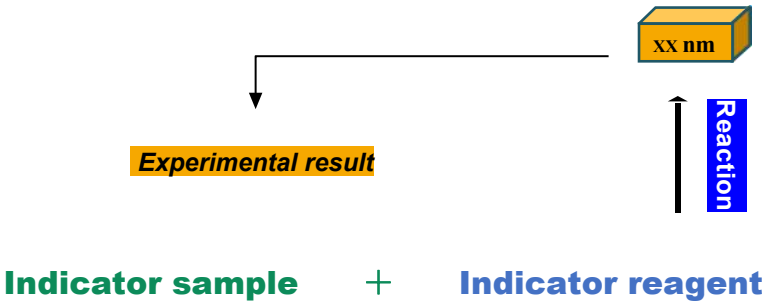
上海茁彩生物科技有限公司

Shanghai zcibio technology Co.,Ltd.



生化检测原理示意图

货号：ZC-S0705　　规格：50管/24样

β-1,3葡聚糖酶（β-1,3-GA）检测试剂盒说明书

可见分光光度法

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 50mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉剂×1 瓶	4℃保存	临用前加入 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、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	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），ΔA=A 测定-A对照。每个测定管需设一个对照管。

三、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）

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。

β-1,3-GA(U/mg prot)=(y×V1)÷(V1×Cpr)÷T=y ÷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。

β-1,3-GA(U/g 鲜重)=(y×V1)÷(W×V1÷V2)÷T=y ÷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。

β-1,3-GA(U/10^4 cell)=(y×V1)÷(500×V1÷V2)÷T=0.002×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；T：反应时间：1h。