

β-1,3-Glucanase Activity Assay Kit

β-1,3 葡聚糖酶(β-1,3-GA)活性检测试剂盒 微板法

产品编号	产品名称	规格
BL1808B	β-1,3 葡聚糖酶(β-1,3-GA)活性检测试剂盒 微板法	96T

产品简介:

β-1,3 葡聚糖酶 (β-1,3-GA, EC 3.2.1.39)主要存在植物中,催化β-1,3-葡萄糖苷键水解,进而破坏真菌细胞壁,特别是与几丁质酶的协同作用下,可明显抑制真菌的生长。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,以增强植物体对不良外界刺激产生抗性反应,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 水解昆布多糖的β-1,3-葡萄糖苷键,产生还原末端。利用 3,5 二硝基水杨酸测定还原糖的量,在 540nm 读取吸光值,进而得出β-1,3 葡聚糖酶的活性。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	120mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	8mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	粉末×1 瓶	4°C保存	用前加入 4.5mL 试剂一,充分溶解待用;用不完的试剂 4°C保存;
试剂三	60mL×1 瓶	4°C保存	
标准品	粉末×1 支	4°C保存	若重新做标曲,则用到该试剂

使用方法:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定,了解本批样品情况,熟悉实验流程,避免实验样本和试剂浪费!

一、样本准备

1. 组织样本:

- (a) 称取约 0.2g 组织(水分充足的样本可取 1g),加入 1mL 经预冷的 95%乙醇冰浴匀浆,4°C 放置 10min;
- (b) 12000rpm, 4°C离心 5min;
- (c) 弃上清,留沉淀,向沉淀中加入经预冷的 1mL 的 80%乙醇混匀,4°C放置 10min;
- (d) 12000rpm, 4°C离心 5min;
- (e) 弃上清,留沉淀。再向沉淀中加入 1mL 经预冷提取液,涡旋混匀,4°C放置 10min;
- (f) 12000rpm, 4°C离心 10min,取上清,置冰上待测。

【注】: 若增加样本量,可按照组织质量(g):提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例进行提取。

2. 细菌/细胞样本:

- (a) 先收集细菌/真菌到离心管内,离心后弃上清;取 500 万细菌/细胞加入 1mL 提取液;
- (b) 冰浴超声波破碎细菌/细胞(冰浴,功率 20%或 200W,超声 3s,间隔 10s,重复 30 次);
- (c) 12000rpm, 4°C离心 10min,取上清,置冰上待测。

【注】: 若增加样本量,按照每 $0.5\sim 1\times 10^7$ 个细菌/细胞加入 1mL 提取液进行提取。

3. 液体样品:

直接检测。若浑浊,离心后取上清检测。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意:在体外研究使用,不用于诊断或治疗用途,本产品不是医疗装置。



二、样品测定

1. 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 540nm。
2. 在离心管中依次加入：

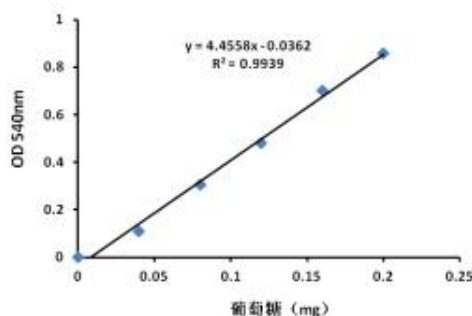
试剂名称 (μL)	测定管	对照管
样本	20	-
煮沸样本*	-	20
试剂二	20	20
充分混匀，放入 37°C 水浴 30 min。		
试剂三	300	300
混匀，95°C 水浴 5min (可用封口膜缠紧，防止水分散失)，流水冷却至室温。		
蒸馏水	560	560
混匀，取 200μL 至 96 孔板中，540nm 处记录各管吸光值 A， ΔA=A 测定-A 对照 (每个样本一个对照管)。		

【注】：1. 煮沸样本*：将同一个样本在沸水 (98-100°C) 中煮沸 15 分钟，以将酶彻底灭活。再 12000rpm，4°C 离心 10min；上清液备用。

2. 若 ΔA 很小在零附近徘徊，可在样本制备时加大取样质量 W (由 0.2g 增加到 0.5g 等)，或增加样本加样量 V1 (由 20μL 增加到 100μL，相应的蒸馏水减少，保持总体积 900μL 不变)，或延长 37°C 水浴时间 T (由 30min 增至 60min)，则改变后的 W 和 V1 和 T 需代入计算公式重新计算。

三、结果计算

1. 标准曲线方程： $y = 4.4558x - 0.0362$ ；x 为标准品质量 (mg)，y 为 ΔA。



2. 按蛋白浓度计算：

酶活定义：每毫克组织蛋白每分钟分解昆布多糖产生 1μg 葡萄糖定义为一个酶活性单位。

$$\beta\text{-1,3-GA}(\mu\text{g}/\text{min}/\text{mg prot}) = [(\Delta A + 0.0362) \div 4.4558 \times 10^3] \div (V1 \times Cpr) \div T = 374 \times (\Delta A + 0.0362) \div Cpr$$

3. 按样本鲜重计算：

酶活定义：每克组织每分钟分解昆布多糖产生 1μg 葡萄糖定义为一个酶活性单位。

$$\beta\text{-1,3-GA}(\mu\text{g}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = [(\Delta A + 0.0362) \div 4.4558 \times 10^3] \div (W \times V1 \div V) \div T = 374 \times (\Delta A + 0.0362) \div W$$

4. 按细菌/细胞密度计算：

酶活定义：每 1 万个细菌或细胞每分钟分解昆布多糖产生 1μg 葡萄糖定义为一个酶活性单位。

$$\beta\text{-1,3-GA}(\mu\text{g}/\text{min}/10^4 \text{ cell}) = [(\Delta A + 0.0362) \div 4.4558 \times 10^3] \div (500 \times V1 \div V) \div T = 0.75 \times (\Delta A + 0.0362)$$

5. 按液体体积计算：

酶活定义：每毫升样本每分钟分解昆布多糖产生 1μg 葡萄糖定义为一个酶活性单位。

$$\beta\text{-1,3-GA}(\mu\text{g}/\text{min}/\text{mL}) = [(\Delta A + 0.0362) \div 4.4558 \times 10^3] \div V1 \div T = 374 \times (\Delta A + 0.0362)$$

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。



V---加入提取液体积, 1mL
T---30min
500---细菌/细胞总数, 500 万
Cpr---样本蛋白质浓度, mg/mL

V1---加入样本体积, 20 μ L =0.02mL
W---样本鲜重, g
葡萄糖分子量---180.16

附：标准曲线制作过程：

1. 制备标准品母液（10mg/mL）：向标准品离心管里面加入 1mL 蒸馏水（母液需在两天内用且-20°C保存）。
2. 把母液稀释成六个浓度梯度的标准品：0, 2, 4, 6, 8, 10. mg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
3. 依据测定管的加样表（标准品替换样本，且试剂二换成蒸馏水）操作，根据结果即可制作标准曲线。

注意事项：

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：

4°C保存六个月。

