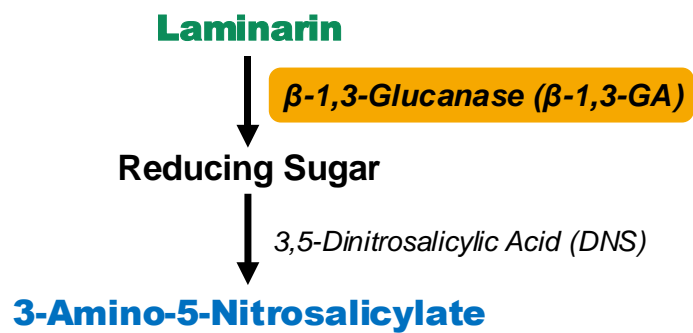




β -1,3 葡聚糖酶 (β -1,3-GA) 活性检测试剂盒
 β -1,3-Glucanase (β -1,3-GA) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



β-1,3 葡聚糖酶 (β-1,3-GA) 活性检测试剂盒

β-1,3-Glucanase (β-1,3-GA) Activity Assay Kit

一、产品描述

β-1,3-葡聚糖酶是一类水解以 β-1,3 葡聚糖键链接的葡聚糖酶系，广泛存在于植物、细菌、真菌和无脊椎动物中，能够参与植物生长发育，提高或诱导抗病性，提供菌体营养，调节真菌细胞壁稳定性和刚性，参与病毒释放和入侵等，其多种生理功能在植物生长发育和逆境生理等方面具有重要作用。

β-1,3 葡聚糖酶能够内切昆布多糖中的 β-1,3-葡萄糖苷键产生还原末端，进一步与 DNS 反应生成棕红色化合物，产物在 540 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征 β-1,3 葡聚糖酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 120 mL×1 瓶	4°C 保存	-
基质液	粉剂×2 瓶	4°C 保存	使用前每瓶加入 5 mL 蒸馏水充分溶解 (超声至完全溶解，配制后 4°C 可保存 1 个月)
显色液	液体 60 mL×1 瓶	4°C 避光保存	-
标准品	粉剂×1 支 (10 mg 葡萄糖标准品)	4°C 保存	使用前加入 1 mL 蒸馏水充分溶解 (即为 10 mg/mL 葡萄糖标准液)
标准稀释液的制备 (现用现配): 使用前将 10 mg/mL 葡萄糖标准液使用蒸馏水稀释至 1.5、1.2、1.0、0.8、0.4、0.2 mg/mL 即为标准稀释液。			

序号	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度 (mg/mL)	10	10	10	10	10	10
标准液体积 (μL)	150	120	100	80	40	20
蒸馏水体积 (μL)	850	880	900	920	960	980
稀释后浓度 (mg/mL)	1.5	1.2	1.0	0.8	0.4	0.2

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 酶标仪、96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1.粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

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 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，4°C 12000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量（ 10^4 个）：提取液体积（mL）为（500-1000）:1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次），4°C 12000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③培养液等液体样本：直接测定或适当稀释后再进行测定。

2.测定步骤

①酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 540 nm。

②在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μL)	对照管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
粗酶液	40	40	-	-
标准稀释液	-	-	40	-
蒸馏水	-	-	40	80
基质液	40	-	-	-

①充分混匀，37°C准确反应 60 min；

②立即沸水浴处理 5 min，冷却至室温；

基质液	-	40	-	-
显色液	240	240	240	240

充分混匀，沸水浴处理 5 min，冷却至室温；

注：沸水浴处理过程中注意密封以防止水分散失。

吸光值测定：吸取 200 μL 反应液至 96 孔板中，测定 540 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白；计算 ΔA 测定=A 测定-A 对照， ΔA 标准=A 标准-A 空白。注：每个样品均需设定一个对照管，各浓度标准管和空白管只需测定 1-2 次。

标准曲线的建立：以 1.5、1.2、1.0、0.8、0.4、0.2 mg/mL 为横坐标 (x)，以其对应的 ΔA 标准为纵坐标 (y)，绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 ΔA 测定带入公式中得到 x (mg/mL)。

3. β -1,3 葡聚糖酶 (β -1,3-GA) 活性计算

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每小时生成 1 mg 还原糖定义为一个酶活力单位。

$$\beta\text{-1,3-GA (U/mg prot)} = \frac{x \times V_{\text{样}}}{C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{x}{C_{\text{pr}}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织样本每小时生成 1 mg 还原糖定义为一个酶活力单位。

$$\beta\text{-1,3-GA (U/g)} = \frac{x \times V_{\text{样}} \times V_{\text{提}}}{W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{x}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细胞或细菌每小时生成 1 mg 还原糖定义为一个酶活力单位。

$$\beta\text{-1,3-GA (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{x \times V_{\text{样}} \times V_{\text{提}}}{\text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{x}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每小时生成 1 mg 还原糖定义为一个酶活力单位。

$$\beta\text{-1,3-GA (U/mL)} = \frac{x \times V_{\text{样}} \times D}{V_{\text{样}} \times T} = D \times x$$

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.04 mL；V 提：粗酶液总体积，1 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计；T：反应时间，1 h；D：液体样本稀释倍数。

四、注意事项

- ①若A测定或 ΔA 测定超出标准吸光值线性范围：高于最高值建议将粗酶液适当稀释后再进行测定，低于最低值建议适当增加样本量或适当延长37°C反应时间后再进行测定，计算时相应修改；
- ②为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取2-3个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

