

## β-1,3 葡聚糖酶 (β-1,3-glucanase, β-1,3-GA) 试剂盒说明书

分光光度法 50 管/24 样

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

### 测定意义：

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。

### 测定原理：

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。

### 组成：

产品名称	GMS024-50T/24S	Storage
提取液：液体	50ml	4°C
试剂一：粉剂	1 瓶	4°C
试剂二：液体	30ml	4°C
说明书	一份	

试剂一：粉剂×1 瓶，4°C保存；临用前加入 3ml 蒸馏水，充分溶解待用；用不完的试剂 4°C保存；

### 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。

### 粗酶液提取：

- 1、细菌或培养细胞：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；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 1ml 提取液），超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；12000g 4°C离心 10min，取上清，置冰上待测。
- 2、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°C离心 10min，取上清，置冰上待测。
- 3、血清（浆）样品：直接检测。

### 测定步骤：

最终解释权所有 © 伊势久（江苏连云港）生物科技有限责任公司，保留一切权利



1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 550nm，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
样本	100	100
蒸馏水		100
试剂一	100	
充分混匀，放入 37°C 水浴 60 min		
试剂二	600	600

充分混匀，95°C 水浴 5min（盖紧，防止水分散失），流水冷却，550nm 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（计算公式乘以相应稀释倍数）， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。每个测定管需设一个对照管。

### β-1,3-GA 活性计算：

1、标准条件下测定回归方程为  $y = 0.0958x - 0.0192$ ；x 为标准品浓度（mg/ml），y 为吸光值。

2、血清（浆）β-1,3-GA 活力的计算

$$\beta\text{-1,3-GA}(\text{mg/h/ml}) = [(\Delta A + 0.0192) \div 0.0958 \times V1] \div V1 = 10.438 \times (\Delta A + 0.0192)$$

3、细胞、细菌和组织中 β-1,3-GA 活力的计算

(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。

$$\beta\text{-1,3-GA}(\text{mg/h/mg prot}) = [(\Delta A + 0.0192) \div 0.0958 \times V1] \div (V1 \times Cpr) = 10.438 \times (\Delta A + 0.0192) \div Cpr$$

(2) 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。

$$\beta\text{-1,3-GA}(\text{mg/h/g 鲜重}) = [(\Delta A + 0.0192) \div 0.09585 \times V1] \div (W \times V1 \div V2) = 10.438 \times (\Delta A + 0.0192) \div W$$

(3) 按细菌或细胞密度计算

单位的定义：每 1 万个细菌或细胞每小时产生 1mg 还原糖定义为一个酶活性单位。

$$\beta\text{-1,3-GA}(\text{mg/h}/10^4 \text{ cell}) = [(\Delta A + 0.0192) \div 0.0958 \times V1] \div (500 \times V1 \div V2) = 0.0208 \times (\Delta A + 0.0192)$$

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，500 万。

