

β-1,3 葡聚糖酶 (β-1,3-GA) 检测试剂盒 (微量法)

货号: PMK1183

保存: 4℃避光保存 12 个月

规格: 48T/96T

适用样本: 植物组织

产品简介

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。本试剂盒提供了一种简单易用的比色法, 用于分析生物样品中 β-1,3-GA 的活性。其原理是 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。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃保存
试剂一	粉剂×1支	粉剂×1支	4℃保存
试剂二	15mL	30mL	室温避光保存
标准品	粉剂×1支	粉剂×1支	4℃保存

自备耗材

酶标仪或可见光分光光度计 (能测 540nm 处的吸光度) 及水浴锅

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

离心机、制冰机

去离子水

匀浆器

试剂准备

提取液: 即用型; 4℃保存。

试剂一: 临用前 48T 加入 1mL 去离子水, 96T 加入 2mL 去离子水; 充分溶解备用; 用不完的试剂 4℃保存。

试剂二: 即用型; 室温避光保存; 若有黄色晶体析出, 需 90℃加热溶解后再用。

标准品: 含 10mg 无水葡萄糖, 临用前加入 1mL 去离子水溶解得 10mg/mL 标准品储液。10mg/mL 标准品储液可 4℃保存 1 个月或 -20℃长期保存。取 40μL 10mg/mL 标准品储液, 加入 360μL 去离子水得到 1mg/mL 的标准溶液。

注意: 每次实验, 请使用新配制的标准溶液。

样本制备

植物组织: 称取约 0.1g 样本, 加入 1mL 提取液, 冰浴超声波破碎 5min (功率 20%或 200W, 超声 3s, 间隔 7s, 重复 30 次), 12,000g, 4℃离心 10min, 取上清液置冰上待测。

注意: 推荐使用新鲜样本, 如果不立即进行实验, 样本可在 -80℃保存 1 个月。如需测定蛋白浓度, 推荐使用 BCA 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30min 以上, 调节波长到 540nm, 可见分光光度计去离子水调零。
2. 样本测定: 在 1.5mLEP 管中依次加入下列试剂

	标准 (μL)	空白 (μL)	测定 (μL)	对照 (μL)
样本	0	0	35	35
标准溶液	35	0	0	0
去离子水	35	70	0	35
试剂一	0	0	35	0
充分混匀, 放入 37°C 水浴 60min				
试剂二	230	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 处测定吸光值 A, 计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。每个测定管需设一个对照, 标准和空白只需要测一次。

注意: 1. 实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 小于 0.005 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 大于 2.0, 样本可用去离子水进一步稀释, 计算结果乘以稀释倍数。

结果计算

1. 按样本质量计算

单位的定义: 每 g 组织在反应体系中每小时产生 1mg 还原糖定义为一个酶活性单位 U。

$$\beta\text{-1,3-GA 活性 (U/g 质量)} = C_{\text{标}} \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \times V_{\text{反应}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 2 \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \div W$$

2. 按蛋白浓度计算

单位的定义: 每 mg 组织蛋白在反应体系中每小时产生 1mg 还原糖定义为一个酶活力单位 U。

$$\beta\text{-1,3-GA 活性 (U/mg prot)} = C_{\text{标}} \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \times V_{\text{反应}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T = 2 \times (\Delta A_{\text{测}} \div \Delta A_{\text{标}}) \div C_{\text{pr}}$$

$C_{\text{标}}$: 标准溶液浓度, 1mg/mL; $V_{\text{反应}}$: 反应体系总体积, 0.07mL; W : 样本质量, g; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.035mL; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL; T : 反应时间, 1h; C_{pr} : 样本蛋白质浓度, mg/mL。

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验, 尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究, 如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途, 我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用, 并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用; 否则, 可能导致结果异常。
5. 勤换吸头, 避免各组分之间的交叉污染。

相关产品:

PMK1185 β -葡萄糖苷酶 (β -GC) / 纤维二糖水解酶检测试剂盒 (微量法)

PMK1187 β -半乳糖苷酶 (β -GAL) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1176 糖原检测试剂盒 (微量法)

PMK1197 总糖检测试剂盒 (微量法)

PMK1181 还原糖检测试剂盒 (微量法)

PMK1175 植物可溶性糖检测试剂盒 (微量法)

PMK1174 血糖检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解, 请关注公众号:

