β-1,3 葡聚糖酶（β-1,3-GA）活性检测试剂盒说明书

规格：96 样　　方法：酶标仪法

一、注意事项

1. 使用前请通读一遍说明书再开始实验。

2. 正式检测前选取 2~3 个样本进行预检测。

3. 本试剂盒仅用于科研。

二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
提取液	105 mL×1	4℃	
试剂一	粉剂×2	4℃	临用前加入 2 mL 蒸馏水，充分溶解待用；用不完的试剂 4℃保存
试剂二	48.5 mL×1	4℃	

三、仪器和用品

酶标仪、96 孔板、移液器、天平、可降温离心机、超纯水/蒸馏水、研磨仪/研钵、冰、水浴锅。

四、样品制备

1. 组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆，然后，12000 g，4℃，离心 10 min，置于冰上，上清为待测样本。

2. 细菌/细胞：按照细菌/细胞数量（10^4 个）：提取液体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细胞加入 1 mL 提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率 200 W，超声 3 秒，间隔 10 秒，重复 30 次）；然后 12000 g，4℃，离心 10 min，置于冰上，上清为待测样本。

3. 液体样本：澄清的液体的样本直接测定，若浑浊则离心后取上清液检测。

五、测定步骤

1. 酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 550 nm 处。

2. 在 1.5 mL 离心管中依次加入：

	测定管	对照管
样本（μL）	35	35

蒸馏水（μL）	-	35
试剂一（μL）	35	-
充分混匀，放入 37℃水浴 60 min。		
试剂二（μL）	230	230
充分混匀后，95℃水浴 5 min（盖紧，防止水分散失），流水冷却，取 200 μL 至 96 孔板中，测定 550 nm 处吸光值，记 A 测定、A 对照，ΔA=A 测定-A 对照。每个测定管需设一个对照管。		

六、计算

标准方程

标准条件下测得回归方程为 y=0.0479x-0.0192，x 为标准品浓度（mg/mL），y 为吸光值ΔA。

1. 按照液体样本体积计算：

单位定义：每 mL 样品每小时产生 1 mg 还原糖定义为一个酶活性单位。

β-1,3 葡聚糖酶（β-1,3-GA）活性（mg/h/mL）=[（ΔA+0.0192）÷0.0479×V 样]÷V 样=20.88×（ΔA+0.0192）

2. 按照样本质量计算：

单位定义：每 g 组织每小时产生 1 mg 还原糖定义为一个酶活性单位。

β-1,3 葡聚糖酶（β-1,3-GA）活性（mg/h/g 鲜重）=[（ΔA+0.0192）÷0.0479×V 样]÷（W×V 样÷V 提取）=20.88×（ΔA+0.0192）÷W

3. 按照蛋白质浓度计算（需另测蛋白浓度）：

单位定义：每 mg 组织蛋白每小时产生 1 mg 还原糖定义为一个酶活性单位。

β-1,3 葡聚糖酶（β-1,3-GA）活性（mg/h/mg prot）=[（ΔA+0.0192）÷0.0479×V 样]÷（V 样×Cpr）=20.88×（ΔA+0.0192）÷Cpr

4. 按细菌/细胞数量计算：

单位定义：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。

β-1,3 葡聚糖酶（β-1,3-GA）活性（mg/h/10^4 cell）=[（ΔA+0.0192）÷0.0479×V 样]÷（N×V 样÷V 提取）=20.88×（ΔA+0.0192）÷N

V 样：加入反应体系中样本体积，0.035 mL；V 提取：加入提取液体积，1 mL；

Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本鲜重，g；N：细菌/细胞数量，万个。

七、产品简介

β-1,3 葡聚糖酶是植物和微生物体内催化β-1,3-葡聚糖糖苷键水解的关键酶，。主要功能是催化β-1,3-葡聚糖（如海带多糖、昆布多糖）的糖苷键断裂，释放葡萄糖和低聚糖，是评价植物抗病性、细胞壁代谢活性及防御响应能力的重要酶学指标。