CheKine™ β-1,3 葡聚糖酶（β-1,3-GA）活性检测试剂盒（微量法）

货号: KTB1325　　规格: 48 T/24 S　96 T/48 S　　批号：见产品标签

	适用样本：植物组织
	保质期：4℃，避光保存 6 个月

01 背景与原理

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。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。

本试剂盒检测原理是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。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Extraction Buffer	60 mL	120 mL	4℃
Reagent Ⅰ	1.5 mL	3 mL	4℃
Reagent Ⅱ	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃，避光保存
Working Reagent Ⅱ	空瓶×1	空瓶×1	RT
Reagent Ⅲ	16.1 mL	32.2 mL	4℃，避光保存
Standard	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃，避光保存

***请在实验前检查各组分的量。**

***各组分在规格基础上额外提供 10%的量用于进行标准曲线制作或预实验。**

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 550 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	去离子水	配制标准品、检测用
其他	匀浆器、水浴锅、恒温箱、低温离心机、可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有助于提高实验效率

04 注意事项

- **正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。**
- 对于组织样本及细胞样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 建议实验者自行建立标准曲线以提高结果准确度。如未自行建立标准曲线，可参考结果展示部分的典型标准曲线公式进行结果计算。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，**请在实验全程做好生物安全防护**，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

05-1-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Extraction Buffer	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Reagent Ⅰ	即用型；使用前，置于 60℃水浴 10 min	4℃保存
Working Reagent Ⅱ	临用前配制；将 Reagent Ⅱ小心缓慢地倒入 60℃的 Reagent Ⅰ中，立即涡旋混匀 5 min 至完全溶解。随后，使用少量该溶液润洗原 Reagent Ⅱ瓶后继续涡旋混匀。最后，将溶液再次置于 60℃水浴中静置 20 min 以去除气泡，冷却至室温后转移至棕色空瓶中即可（溶液粘度较大，缓慢吸取）	未用完的试剂 4℃避光保存 1 周
Reagent Ⅲ	即用型；使用前平衡到室温	4℃避光保存；有毒且有刺激性气味，建议在通风橱进行实验
10 mg/mL Standard	临用前配制；加入 1 mL 去离子水溶解，配制成 10 mg/mL 葡萄糖溶液备用	4℃避光保存 2 周

05-1-2 标准品配制

使用 10 mg/mL 葡萄糖标准液，按照下表所示，进一步稀释标准品。每次实验都要做一次标准品检测，制作标曲；稀释后的标准品溶液不稳定，必须在 4 小时内使用。

序号	标准品（μL）	去离子水（μL）	浓度（mg/mL）
1	100 μL 10 mg/mL Standard	900	1
2	160 μL of 1 mg/mL	40	0.8
3	120 μL of 1 mg/mL	80	0.6
4	80 μL of 1 mg/mL	120	0.4
5	40 μL of 1 mg/mL	160	0.2
空白	0	200	0

05-2 样本制备

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。测定时，应控制解冻的温度和时间。室温环境下解冻时，需在 4 h 内完成样品解冻。

- **植物组织：**称取约 0.1 g 组织样本，加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴匀浆，12000 g，4℃离心 10 min，取上清，置冰上待测。

05-3 实验步骤

1. **酶标仪准备：**预热 30 min 以上，调节波长到 550 nm。
2. **检测体系配制：**在 1.5 mL EP 管中按照如下方式操作（每个测定管需设一个对照管，空白管和标准管只需做 1-2 次）：

试剂	测定管（μL）	对照管（μL）	标准管（μL）	空白管（μL）
样本	35	35	0	0
Standard	0	0	35	0
去离子水	0	35	35	70
Working Reagent Ⅱ	35	0	0	0
	充分混匀，置于 37℃水浴 60 min			
Reagent Ⅲ	230	230	230	230

3. 充分混匀，沸水浴 5 min（盖紧，防止水分散失），流水冷却。
4. **吸光度检测：**取 200 μL 至 96 孔板中，于 550 nm 处测定吸光值，分别记为 $A_{测定}$、$A_{对照}$、$A_{标准}$和 $A_{空白}$。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧**二维码**或访问官网[https://www.abbkine.cn]>进入“**技术中心**”>查找“**在线计算器**”**工具**。

06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算$\Delta A_{测定}=A_{测定}-A_{对照}$，$\Delta A_{标准}=A_{标准}-A_{空白}$。

2. 标准曲线绘制

以标准品浓度为 y 轴，$\Delta A_{标准}$为 x 轴，绘制标准曲线。将$\Delta A_{测定}$代入方程得到 y 值（mg/mL）。

3. β-1,3-GA 活性的计算:

- 按样本质量计算:

单位的定义：每 g 组织每小时产生 1 mg 还原糖定义为一个酶活力单位。

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

- 按样本蛋白浓度计算:

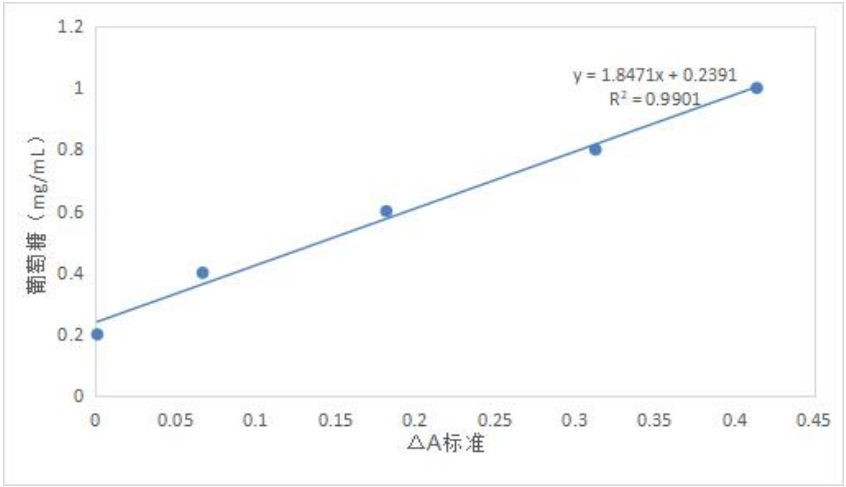
单位的定义：每毫克组织蛋白每小时产生 1 mg 还原糖定义为一个酶活力单位。

$\beta\text{-1,3-GA (U/mg prot)}=(y\times V_{样})\div(V_{样}\times Cpr)\div T=\mathbf{y\div Cpr}$

$V_{样}$：加入反应体系中样本体积，0.035 mL；$V_{提}$：加入 Extraction Buffer 体积，1 mL；T：反应时间，60 min=1 h；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g。

07 结果展示

典型标准曲线:



示例-1：取 0.16 g 玉米种子使用 96 孔板测得计算$\Delta A_{测定}=1.105-1.097=0.008$，代入方程得 y=0.254，按样本质量计算含量得：$\beta\text{-1,3-GA (U/g)}=(y\times V_{样})\div(V_{样}\div V_{提}\times W)\div T=\mathbf{y\div W}=1.588$ U/g。

08 FAQ

- **检测得到的样本$\Delta A_{测定}$过高或者过低怎么办?**

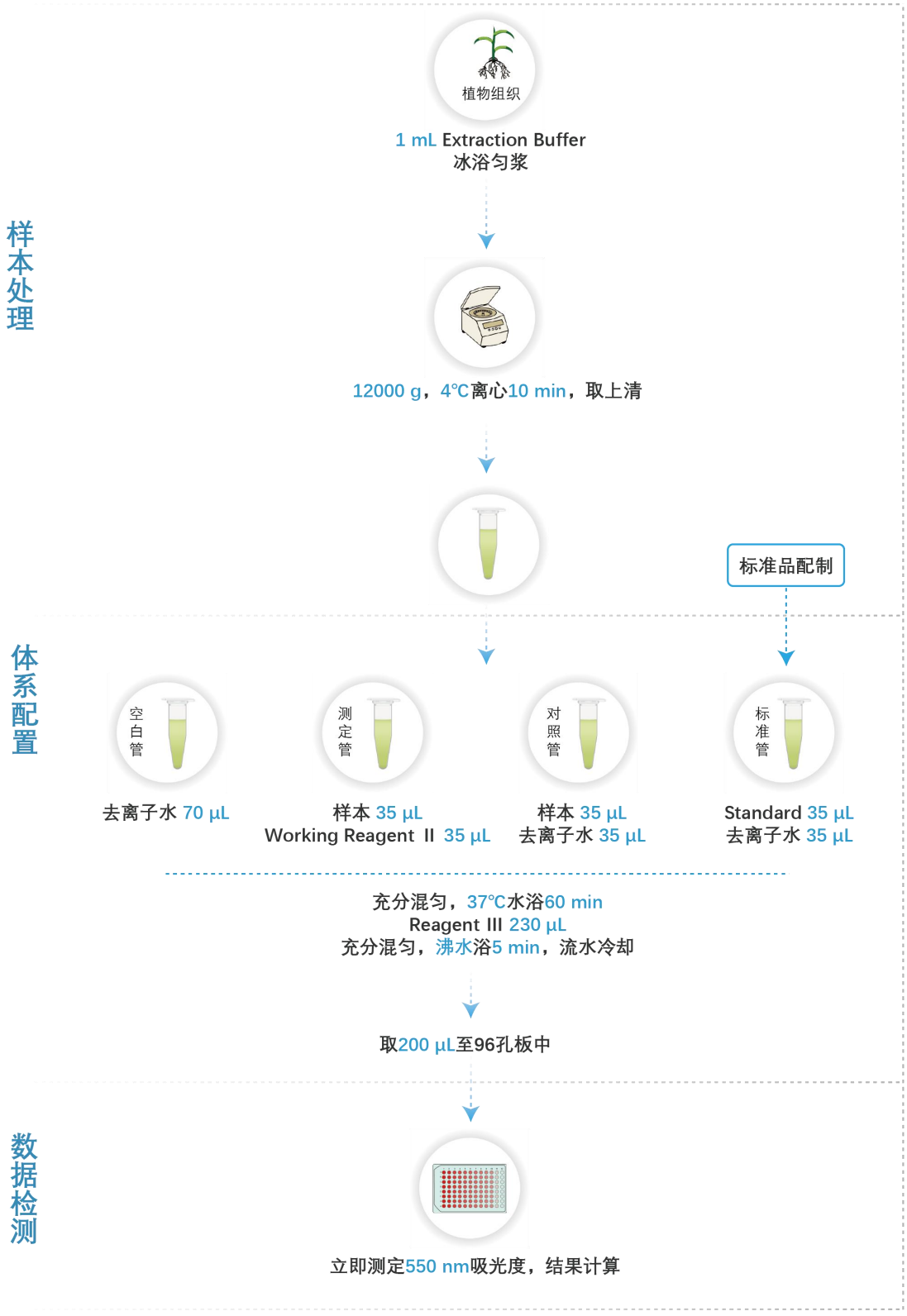
如果样本$\Delta A_{测定}$>1 mg/mL 的$\Delta A_{标准}$，样本需用去离子水适当稀释或减少提取用样本量，重新进行测定。如果样本的$\Delta A_{测定}$<0.01，可适当提高样本量。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB1015	CheKine™ α-葡萄糖苷酶活性（α-GC）活性检测试剂盒（微量法）
KTB1322	CheKine™ β-葡萄糖苷酶（β-GC）活性检测试剂盒（微量法）

CheKine™ β-1,3葡聚糖酶（β-1,3-GA）活性检测流程示意图

（Abbkine 货号：KTB1325）



V1.0