

β-galactosidase Assay Kit

β-半乳糖苷酶(β-GAL)检测试剂盒 分光法

| 产品编号 | 产品名称 | 规格 |
|--------|-------------------------|-----|
| BL861A | β-半乳糖苷酶(β-GAL)检测试剂盒 分光法 | 24T |

产品简介:

β-半乳糖苷酶 (β-GAL) 又称β-D-半乳糖苷半乳糖基转移酶, 简称乳糖酶, 存在于动物、植物、微生物和培养细胞中, 专一性作用于β-D-半乳糖苷类化合物的酶, 广泛用于生化分析、医学和食品等领域。

本试剂盒提供一种简单, 灵敏, 快速的测定方法, β-GAL 分解对-硝基苯-β-D-吡喃半乳糖苷生成对-硝基苯酚, 后者在 405nm 有最大吸收峰, 通过测定吸光值升高速率来计算β-GAL 活性。

产品组成:

| 试剂名称 | 规格 | 保存要求 | 备注 |
|------|-------------|-------|----------------|
| 提取液 | 液体 30mL×1 瓶 | 4°C保存 | |
| 试剂一 | 粉末×1 支 | 4°C保存 | 临用前加 2ml 水 |
| 试剂二 | 液体 8mL×1 瓶 | 4°C保存 | |
| 试剂三 | 液体 20mL×1 瓶 | 4°C保存 | |
| 标准品 | 粉末×1 支 | 4°C保存 | 若重新做标曲, 则用到该试剂 |

使用方法:

建议正式实验前, 选取 2 个样本做预测定, 了解实验样品情况, 熟悉流程, 避免样本和试剂浪费!

一、样本准备

1. 组织样本准备:

- 称取约 0.1g 样本组织 (水分充足的样本可取 0.5g), 加入 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆;
- 12000rpm, 4°C离心 10min, 取上清液, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可以按照组织质量 (g): 提取液为 1: 5~10 的比例提取

2. 细菌/细胞样本准备:

- 收集细菌或细胞到离心管内, 离心弃上清;
- 取约 5×10^6 个细菌或细胞加入 1mL 提取液, 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 强度 20% 或 200W, 超声 3S, 间隔 10S, 重复 30 次);
- 12000rpm, 4°C离心 10min, 取上清液, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照每 $0.5 \sim 1 \times 10^7$ 个细菌/细胞加入 1mL 提取液进行提取

3. 液体样本准备:

澄清的液体直接检测; 若浑浊则离心后取上清检测。

二、样品测定

- 可见分光光度计预热 30min 以上, 温度设定 37°C, 调节波长至 405nm, 蒸馏水调零。
- 在离心管中依次加入:

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。

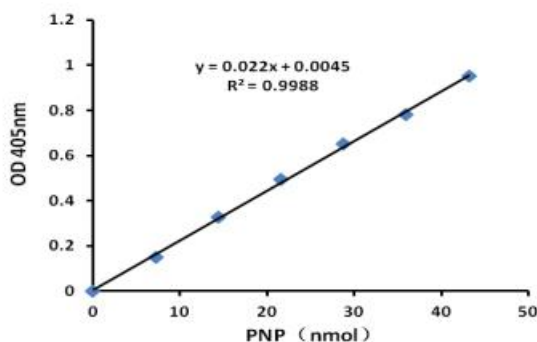


| 试剂名称 (μL) | 测定管 | 对照管 |
|--|-----|-----|
| 样本 | 20 | 20 |
| 试剂一 | 75 | - |
| 蒸馏水 | - | 75 |
| 试剂二 | 115 | 115 |
| 迅速混匀, 37°C保温 30min | | |
| 试剂三 | 540 | 540 |
| 混匀, 全部液体转移到 1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm) 中, 405nm 处测定吸光值 A, $\Delta A = A_{测定} - A_{对照}$ (每个测定管需设一个对照管)。 | | |

【注】：若 ΔA 过小, 可以延长保温时间 (如: 40min 或更长), 或增加样本上样量 V1 (如增至 60μL, 则试剂二相应减少), 则改变后的 T 或 V1 需重新代入计算公式计算。

三、含量计算

1. 标准曲线方程: $y = 0.022x + 0.0045$; x 是 PNP 摩尔质量: nmol; y 是 ΔA 。



2. 照样本蛋白浓度计算:

酶活定义: 每毫克蛋白每分钟水解 1nmol PNPP 产生 PNP 定义为 1 个酶活单位。

$$\beta\text{-GAL 活性}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mg prot}) = [(\Delta A - 0.0045) \div 0.022] \div (V1 \times Cpr) \div T = 75.76 \times (\Delta A - 0.0045) \div Cpr$$

3. 按样本鲜重计算:

酶活定义: 每克组织每分钟水解 1nmol PNPP 产生 PNP 定义为 1 个酶活单位。

$$\beta\text{-GAL 活性}(\text{nmol}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = [(\Delta A - 0.0045) \div 0.022] \div (W \times V1 \div V) \div T = 75.76 \times (\Delta A - 0.0045) \div W$$

4. 按细菌/细胞数量计算:

酶活定义: 每 1 万个细菌或细胞每分钟产生 1nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活性单位。

$$\beta\text{-GAL 活性}(\text{nmol}/\text{min}/10^4\text{cell}) = [(\Delta A - 0.0045) \div 0.022] \div (500 \times V1 \div V) \div T = 0.152 \times (\Delta A - 0.0045)$$

5. 按照液体体积计算:

酶活定义: 每毫升液体每分钟产生 1nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活性单位。

$$\beta\text{-GAL 活性}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mL}) = [(\Delta A - 0.0045) \div 0.022] \div V1 \div T = 75.76 \times (\Delta A - 0.0045)$$

V---加入提取液体积, 1 mL

V1---加入样本体积, 0.02mL

T---反应时间, 30min

W---样本质量,g

D---稀释倍数, 未稀释即为 1

500---细胞数量

PNP 对分子质量---139.11

Cpr---样本蛋白质浓度, mg/mL

附: 标准曲线制作过程:

1. 制备标准品母液 (1mg/mL): 向标准品离心管里面加入 1ml 蒸馏水。

2. 把母液用蒸馏水稀释成以下浓度梯度的标准品: 0, 0.1, 0.15, 0.2, 0.25, 0.3mg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。

3. 在离心管加入: 20μL 标准品+75μL 蒸馏水+115μL 试剂二+540μL 试剂三, 混匀, 全部液

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。





体转移到 1mL 玻璃比色皿中，于 405nm 下读取吸光值。

4. 根据结果制作标准曲线。

注意事项:

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期:

4°C保存三个月。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。

电话: 400-600-4213

邮箱: techserv@labgic.com

