

## Lactose Content Assay Kit

### 乳糖(Lactose)含量测定试剂盒 分光法

产品编号	产品名称	规格
BL1797A	乳糖(Lactose)含量测定试剂盒 分光法	24T

#### 产品简介:

乳糖在 $\beta$ -半乳糖苷酶作用下分解成半乳糖和葡萄糖,葡萄糖被特异性酶氧化产生与显色剂反应的(粉)红色产物,该产物在510nm处有最大吸收峰,通过校正游离的葡萄糖背景值进而得到乳糖含量。

#### 产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液 A1	粉末×1 支	4°C保存	临用前甩几下使粉剂落入底部,再加 2mL 的蒸馏水充分溶解备用。
提取液 A2	粉末×1 支	4°C保存	临用前甩几下使粉剂落入底部,再加 2mL 的蒸馏水充分溶解备用。
试剂一	液体×1 支	4°C保存	临用前甩几下或离心,使微量液体落入底部,再加 0.6mL 蒸馏水混匀
试剂二	5mL×1 瓶	4°C保存	
试剂三	10mL×1 瓶	4°C保存	
试剂四	18mL×1 瓶	4°C保存	临用前加 9mL 试剂三混匀备用
试剂五	粉末×1 支	-20°C保存	临用前甩几下或离心,使粉体落入底部,再加 1.1mL 蒸馏水溶解备用。
标准品	粉末×1 支	4°C保存	临用前甩几下或离心,使粉体落入底部,再加 2mL 蒸馏水溶解即 5mg/mL 的葡萄糖,再用蒸馏水稀释成 0.3mg/mL 备用测定。

#### 使用方法:

##### 一、样本准备

##### 1. 组织样本:

(a) 取 0.1g 组织样本(水分充足的样本建议取 0.2g 左右),加 1mL 的蒸馏水研磨,粗提液全部转移到离心管中;12000rpm,常温离心 10min,上清液待测。

##### 2. 液体样本:

近似中性的澄清液体样本可直接检测;若为酸性样本则需先用 NaOH(2M)调 PH 值约 7.4,然后室温静置 30min,取澄清液体直接检测。

##### 3. 高蛋白含量组织样本:

(a) 称取约 0.1g 样本(水分充足的样本建议取 0.2g 左右),加 0.9mL 的蒸馏水研磨,粗提液全部转移到离心管中;

(b) 向上述离心管中加入 0.05mL 提取液 A1,混匀后加入 0.05mL 提取液 A2,混匀,用蒸馏水定容到 1mL,室温静置 30min,若有脂肪除去上层脂肪;

(c) 12000rpm 室温离心 10min,取澄清的液体检测。

##### 4. 细胞样本:

(a) 先收集细胞到离心管内,离心后弃上清;

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。



- (b) 取约 500 万细胞加入 1mL 生理盐水或磷酸缓冲液，超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；  
 (c) 12000rpm 4°C离心 10min，取上清，置冰上待测。

## 二、样品测定

1. 可见分光光度计预热 30min，设置温度在 25°C，设定波长到 510nm，蒸馏水调零。
2. 所有试剂解冻至室温（25°C）。
3. 做实验前可以选取几个样本做预测定，若待检测指标含量较高可通过用蒸馏水稀释找出适合本次检测样本的稀释倍数 D。
4. 在离心管中依次加入：

试剂名称 ( $\mu\text{L}$ )	测定管	对照管	标准管 (仅做一次)	空白管 (仅做一次)
样本	40	40	-	-
标准品	-	-	40	-
蒸馏水	80	100	100	140
试剂一	20	-	-	-
试剂二	100	100	100	100
混匀，25°C条件下孵育20min				
试剂四	480	480	480	480
试剂五	20	20	20	20
混匀，37°C条件下避光孵育 30min，全部液体转移至 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm），于 510nm 下读取吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ （每个样本做一个自身对照）。				

【注】：1.若对照管的 A 值超过 0.6，样本需用蒸馏水进行稀释，稀释倍数 D 代入计算公式。

2.若  $\Delta A$  的值低于 0.01，可增加样本加样体积 V1（如增至 80 $\mu\text{L}$ ，则蒸馏水相应减少），改变后的 V1 代入计算公式重新计算。

## 三、结果计算

1. 按样本质量计算：

$$\begin{aligned} \text{乳糖含量(mg/g 鲜重)} &= (C_{\text{标准}} \times V1) \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times 342.3 \div 180.16 \div (W \times V1 \div V) \times D \\ &= 0.57 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div W \times D \end{aligned}$$

2. 按照体积计算：

$$\begin{aligned} \text{乳糖含量(mg/mL)} &= (C_{\text{标准}} \times V1) \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times 342.3 \div 180.16 \div V1 \times D \\ &= 0.57 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D \end{aligned}$$

3. 按细胞数量计算：

$$\begin{aligned} \text{乳糖含量(mg/10}^4 \text{ cell)} &= (C_{\text{标准}} \times V1) \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times 342.3 \div 180.16 \div (\text{细胞数量} \\ &\quad \times V1 \div V) \times D = 0.57 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div \text{细胞数量} \times D \end{aligned}$$

乳糖分子量----342.3

葡萄糖分子量----180.16

C 标准---葡萄糖标准品的浓度，0.3mg/mL

V---加入提取液体积，1mL

V1---加入样本体积，0.04mL

W---样本鲜重，g

D---稀释倍数，未稀释即为 1

细胞数量---500，万

## 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：

-20°C保存六个月。

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。

