

β-galactosidase Assay Kit

β-半乳糖苷酶(β-GAL)检测试剂盒 微板法

产品编号	产品名称	规格
BL861B	β-半乳糖苷酶(β-GAL)检测试剂盒 微板法	48T

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	60mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	粉末×1 支	4°C保存	临用前加 1.5ml 水
试剂二	5mL×1 瓶	4°C保存	
试剂三	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:

- (a) 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;
- (b) 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:

- (a) 收集细菌或细胞到离心管内, 离心弃上清;
- (b) 取约 5×10⁶ 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);
- (c) 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 5~10×10⁶ 个细菌/细胞加入 1mL 提取液进行提取

3. 液体样本: 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:

1. 酶标仪预热 30min 以上, 温度设定 37°C, 调节波长至 405nm。
2. 在离心管中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
样本	10	10
试剂一	25	-
蒸馏水	-	25
试剂二	35	35
迅速混匀, 37°C保温 30min		
试剂三	180	180

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。

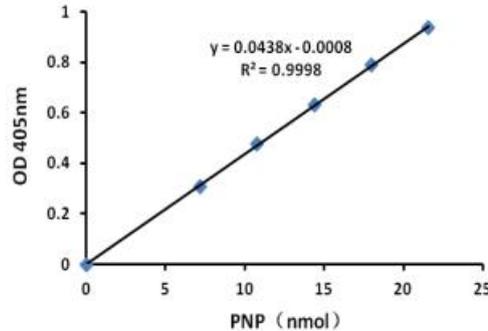


混匀，取 200 μ L 转移到 96 孔板中，405nm 处测定吸光值 A，
 $\Delta A = A$ 测定-A 对照（每个测定管需设一个对照管）。

【注】：若 ΔA 过小，可以增加样本上样量 V1（如增至 30 μ L，则试剂三相应减少），或延长保温时间（如：40min 或更长），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： $y = 0.0438x - 0.0008$ ；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。

β -GAL 活性(nmol/min/mg prot)=[$(\Delta A + 0.0008) \div 0.0438$] \div (V1 \times Cpr) \div T \times D = 76.1 \times ($\Delta A + 0.0008$) \div Cpr \times D

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。

β -GAL 活性(nmol/min/g 鲜重)=[$(\Delta A + 0.0008) \div 0.0438$] \div (W \times V1 \div V) \div T \times D = 76.1 \times ($\Delta A + 0.0008$) \div W \times D

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。

β -GAL 活性(nmol/min/ 10^4 cell)=[$(\Delta A + 0.0008) \div 0.0438$] \div (500 \times V1 \div V) \div T \times D
 = 0.152 \times ($\Delta A + 0.0008$) \times D

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。

β -GAL 活性(nmol/min/mL)=[$(\Delta A + 0.0008) \div 0.0438$] \div V1 \div T \times D = 76.1 \times ($\Delta A + 0.0008$) \times D

V---加入提取液体积，1 mL
 T---反应时间，30min
 D---稀释倍数，未稀释即为 1
 PNP 对分子质量---139.11

V1---加入样本体积，0.01mL
 W---样本质量,g
 500---细胞数量
 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：10 μ L 标准品+25 μ L 蒸馏水+35 μ L 试剂二+180 μ L 试剂三，混匀，取 200 μ L 至 96 孔板中，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 $^{\circ}$ 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。

