

α -半乳糖苷酶 (α -GAL) 活性检测试剂盒 (微量法)

注意：正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。

产品货号：BA1014

产品规格：100管/48样

产品内容：

提取液：液体100mL×1瓶，4℃保存。

试剂一：粉剂×1瓶，-20℃保存；临用前每瓶加入2.5mL双蒸水，充分溶解备用；用不完的试剂仍-20℃保存。

试剂二：液体4mL×1瓶，4℃保存。

试剂三：液体15mL×1瓶，4℃保存。

标准液：液体1mL×1支，4℃保存，5 μ mol/mL对硝基苯酚溶液。

产品说明：

α -GAL (EC 3.2.1.22)广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中，能专一地催化 α 半乳糖苷键的水解，主要参与棉子糖、水苏糖、蜜二糖和半乳甘露聚糖等半乳糖苷的降解。 α -GAL对于植物种子的萌发至关重要，种子萌发初期，其催化产生的D-半乳糖通过糖酵解途径迅速转化和消耗，为种子的萌发提供最初的能量来源，后期则主要参与细胞壁储藏多糖水解。

α -GAL分解对-硝基苯- α -D-吡喃半乳糖苷生成对-硝基苯酚，后者在400nm有最大吸收峰，通过测定吸光值升高速率来计算 α -GAL活性。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、粗酶液提取：

- 1、细菌或培养细胞的处理：收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照每500万细菌或细胞加入1mL提取液，超声波破碎细菌或细胞（功率20%，超声3s，间隔10s，重复30次），15000g，4℃，离心20分钟，取上清，置冰上待测。
- 2、组织的处理：称取约0.1g组织，加入1mL提取液进行冰浴匀浆；15000g，4℃，离心20min，取上清，置冰上待测。
- 3、标准液的处理：用蒸馏水将标准液稀释至200、100、50、25、12.5、6.25、0nmol/mL。

二、测定步骤：

- 1、分光光度计或酶标仪预热30min以上，调节波长至400nm，蒸馏水调零。
- 2、样本测定，（在EP管或96孔板中依次加入下列试剂）：

试剂名称 (μ L)	测定管	对照管	标准管
试剂一	25		
蒸馏水		25	



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司
Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

试剂二	35	35	
样本	10	10	
迅速混匀，放入37℃准确水浴30min			
标准液			70
试剂三	130	130	130

充分混匀，400nm处测定吸光值A。 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$

α -GAL活性计算：

根据标准管的吸光度（x：各标准管吸光值减去浓度为零的标准管的吸光值）和浓度（y，nmol/mL）建立标准曲线，将 ΔA 带入标准曲线中，计算样品生成的产物量（nmol/mL）。

（1）按样本蛋白浓度计算：

单位的定义：每mg组织蛋白每小时产生1nmol对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

α -GAL 活力(nmol/h /mg prot) = $(y \times V_{\text{反总}}) \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 14 \times y \div C_{\text{pr}}$

需要另外测定，建议使用本公司BCA蛋白质含量测定试剂盒。

（2）按样本鲜重计算：

单位的定义：每g组织每小时产生1nmol对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

α -GAL 活力(nmol/h /g鲜重) = $(y \times V_{\text{反总}}) \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 14 \times y \div W$

（3）按细菌或细胞数量计算：

单位的定义：每1万个细菌或细胞每小时产生1nmol对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

α -GAL 活力(nmol/h / 10^4 cell) = $(y \times V_{\text{反总}}) \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.028 \times y$

Cpr: 样本蛋白质浓度，mg/mL；V反总：反应体系总体积，0.07mL；V样：加入反应体系中样本体积，0.01mL；V样总：加入提取液体积，1mL；W：样本质量，g；500：细胞或细菌总数，500万；T：反应时间，0.5h。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司
Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com