

# L-半乳糖苷-1,4-内脂脱氢酶 (Gal LDH) 活性检测试剂盒 (可见分光光度法)

产品货号: BA1206

产品规格: 50管/48样

## 产品简介:

L-半乳糖途径是合成AsA的主要途径。Gal LDH位于线粒体内膜,负责催化植物体内AsA生物合成的最后一步,也是该途径的关键酶之一,对植物体内AsA含量的积累起着至关重要的作用。

Gal LDH催化L-半乳糖内酯还原氧化型细胞色素C(Cyt c),还原型Cyt c在550nm有吸收峰;测定还原型Cyt c增加速率,来计算Gal LDH活性。

**注意: 实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。**

## 产品内容:

试剂名称	规格	保存条件
提取液一	液体60mL×1瓶	2-8℃
试剂一	粉剂×1瓶	-20℃
试剂二	粉剂×1瓶	2-8℃

## 溶液的配制:

1. 试剂一: 临用前加入40mL蒸馏水,充分溶解;
2. 试剂二: 临用前加入5mL蒸馏水,充分溶解。

## 需自备的仪器和用品:

台式离心机、可见分光光度计、1mL玻璃比色皿、可调式移液器、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

## 操作步骤:

### 一、样品处理 (可适当调整待测样本量,具体比例可以参考文献)

称取约0.1g样本,加提取液1mL,冰上充分研磨,13000g 4℃离心10min,取上清液置冰上待测。

### 二、测定步骤

1. 分光光度计预热30min,调节波长到550nm,蒸馏水调零。
2. 按样本数取出一定量的试剂一在25℃水浴锅中预热30min以上,其余的分装保存(-20℃)。
3. 空白管: 依次在1mL比色皿中加入100μL蒸馏水、800μL预热的试剂一和100μL试剂二,迅速混匀后于550nm比色,记录10s和130s的吸光值,分别为A1, A2,  $\Delta A_{\text{空白管}} = A2 - A1$ 。
4. 测定管: 依次在1mL比色皿中加入100μL上清液、800μL预热的试剂一和100μL试剂二,迅速混匀后于550nm比色,记录10s和130s的吸光值,分别为A3, A4,  $\Delta A_{\text{测定管}} = A4 - A3$ 。

### 三、Gal LDH活性计算

#### (1) 按蛋白浓度计算:

Gal LDH活性单位定义: 25℃中每毫克蛋白每分钟还原1μmol Cyt c为1个酶活单位。

$$\begin{aligned} \text{Gal LDH (U/mg prot)} &= [(\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反应总}} \times 10^6] \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T \\ &= 0.289 \times (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div C_{\text{pr}} \end{aligned}$$



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

QQ: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

(2) 按样本质量计算

Gal LDH活性单位定义：25℃中每克样本每分钟还原1 $\mu$ mol Cyt c为1个酶活单位。

$$\text{Gal LDH (U/g 质量)} = \frac{[(\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^6] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W)}{T} \\ = 0.289 \times (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div W$$

$\epsilon$ : 还原型Cyt c摩尔消光系数, 17.3 $\times 10^3$ L/mol/cm;  $d$ : 比色皿光径, 1cm;  $V_{\text{反总}}$ : 反应体系总体积, 0.2mL=0.0002L;  $10^6$ : 单位换算系数, 1mol=1 $\times 10^6$  $\mu$ mol;  $V_{\text{样}}$ : 加入反应体系中上清液体积, 100 $\mu$ L=0.1mL;  $V_{\text{样总}}$ : 提取液体积, 1mL;  $C_{\text{pr}}$ : 上清液蛋白浓度, mg/mL, 蛋白质浓度需要另外测定;  $W$ : 样本质量, g;  $T$ : 反应时间, 2min。

**注意事项:**

1. 在测定酶活时要注意温度。建议取小烧杯一只装入一定量的25℃蒸馏水, 将此烧杯放入25℃水浴锅中, 在反应过程中把比色皿连同反应液放在此烧杯中。
2. 建议两个人同时做此实验, 一个人比色, 一个人计时, 以保证实验结果的准确性。
3. 加入最后一种试剂后需迅速混匀并测定OD值。



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