

β -半乳糖苷酶 (β -GAL) 活性检测试剂盒 (微量法)

产品货号: BA1030

产品规格: 100管/48样

产品简介

β -GAL(EC 3.2.1.23)广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中,能够催化 β -半乳糖苷化合物中 β -半乳糖苷键水解,此外还具有转半乳糖苷的作用。 β -GAL不仅可为植物的快速生长释放储存的能量,还能在正常的多糖代谢、细胞壁组分代谢以及衰老时细胞壁降解过程中催化多糖、糖蛋白以及半乳糖脂末端半乳糖残基的水解,释放自由的半乳糖。

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400nm有最大吸收峰,通过测定吸光值升高速率来计算 β -GAL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	液体100mL×1瓶	4℃
试剂一	粉剂×1瓶	-20℃
试剂二	液体4mL×1瓶	4℃
试剂三	液体15mL×1瓶	4℃
标准品	液体1mL×1瓶	4℃

溶液的配制:

1. 试剂一: 临用前每瓶加入2.55mL双蒸水,充分溶解备用;用不完的试剂仍-20℃保存。
2. 标准品: 5 μ mol/mL的对硝基苯酚溶液。

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/匀浆器、冰和蒸馏水。

操作步骤 (仅供参考):

一、样本处理 (可适当调整待测样本量,具体比例可以参考文献)

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(冰浴,功率20%,超声3秒,间隔10秒,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20分钟,取上清,置冰上待测。

二、操作步骤

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. 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。
3. 样本测定 (在EP管或96孔板中依次加入下列试剂):



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

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	标准管
试剂一	25	-	-
蒸馏水	-	25	-
试剂二	35	35	-
样本	10	10	-
迅速混匀, 放入37°C保温30min			
标准液	-	-	70
试剂三	130	130	130
充分混匀, 400nm处测定吸光值A, 计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。每个测定管需设一个对照管。			

三、β-GAL活性计算

1. 标准曲线的建立:

根据标准管的吸光度 (x, 减去浓度为0的标准管OD值) 和浓度 (y, nmol/mL) 建立标准曲线, 将 ΔA 带入标准曲线中, 计算样本生成的产物量y (nmol/mL)。

2. β-GAL活性计算:

(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。

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

蛋白浓度需要另外测定。

(2) 按样本质量计算:

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。

$$\beta\text{-GAL活力(U/g质量)} = (y \times V_{\text{反总}}) \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 14 \times y \div W$$

(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。

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

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

QQ: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com