

乳糖 (Lactose) 含量试剂盒 (微板法)

产品货号: BA2759

产品规格: 96样

产品简介:

乳糖在 β -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。

测试盒组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液A1	液体3mL×1瓶	2-8℃	
提取液A2	液体3mL×1瓶	2-8℃	
试剂一	液体 μ L×1支	2-8℃	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	液体3mL×1瓶	2-8℃	
试剂三	液体8mL×1瓶	2-8℃	
试剂四	液体14mL×1瓶	2-8℃	临用前加7mL试剂三混匀备用。
试剂五	粉剂mg×1支	-20℃	临用前甩几下或离心, 使粉剂落入底部, 再加1.1mL蒸馏水溶解备用。
标准品	粉剂mg×1支	2-8℃	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, 再稀释10倍成0.5mg/mL备用测定。

所需的仪器和用品:

酶标仪、96孔板、天平、移液器、离心机、研钵、蒸馏水。

乳糖含量检测:

建议正式实验前选取2个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

1. 样本制备:

- ① 组织样本: 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EP管中, 12000rpm, 常温离心10min, 上清液待测。
- ② 液体样品: 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: 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EP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, 12000rpm室温离心10min, 取澄清的液体检测。
- ④ 细胞样本: 先收集细胞到离心管内, 离心后弃上清; 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); 12000rpm 4℃离心10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照细菌/细胞数量(10^4):提取液(mL)为500~1000:1的比例进行提取。



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

2. 上机检测:

- ① 酶标仪预热30min以上, 设置温度在25℃, 设定波长到510nm。
- ② 所有试剂解冻至室温(25℃)。
- 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 依次在96孔板中加入:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	标准管 (仅做一次)	空白管 (仅做一次)
样本	10	10		
标准品			10	
蒸馏水	20	30	30	40
试剂一	10			
试剂二	30	30	30	30
混匀, 25℃条件下孵育20min				
试剂四	170	170	170	170
试剂五	10	10	10	10
混匀, 37℃条件下避光孵育30min, 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 ΔA 的值低于0.01, 可增加样本加样体积V1(如增至20μL, 则蒸馏水相应减少), 改变后的V1代入计算公式重新计算。

结果计算:

1. 按照质量计算:

$$\begin{aligned} \text{乳糖含量(mg/g鲜重)} &= (C_{\text{标准}} \times V_1) \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times 342.3 \div 180.16 \div (W \times V_1 \div V) \times D \\ &= 0.95 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div W \times D \end{aligned}$$

2. 按照体积计算:

$$\begin{aligned} \text{乳糖含量(mg/mL)} &= (C_{\text{标准}} \times V_1) \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times 342.3 \div 180.16 \div V_1 \times D \\ &= 0.95 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D \end{aligned}$$

3. 按细胞数量计算:

$$\begin{aligned} \text{乳糖含量(mg/10}^4\text{cell)} &= (C_{\text{标准}} \times V_1) \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times 342.3 \div 180.16 \div (\text{细胞数量} \times V_1 \div V) \times D \\ &= 0.95 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div \text{细胞数量} \times D \end{aligned}$$

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, 0.5mg/mL; V----加入提取液体积, 1mL; V1----加入样本体积, 0.01mL; w---样本鲜重, g; 细胞数量---万; D----稀释倍数, 未稀释即为1。



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