

α-半乳糖苷酶 (α-GAL) 检测试剂盒 (微量法)

货号: PMK1186

保存: -20℃避光保存 6 个月

规格: 48T/96T

适用样本: 动植物组织、细胞、细菌、血清、血浆、培养液等液体样本

产品简介

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。本试剂盒提供了一种简单易用的比色法,用于分析各种生物样品中α-GAL的活性。其原理是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。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃保存
试剂一	粉剂×1瓶	粉剂×1瓶	-20℃保存
试剂二	2mL	4mL	4℃保存
试剂三	6.5mL	13mL	4℃保存
标准品	1mL	1mL	4℃保存

自备耗材

酶标仪或可见光分光光度计(能测400nm处的吸光度)及水浴锅
 96孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头
 离心机、制冰机
 去离子水
 匀浆器(如果是组织样本)

试剂准备

提取液: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4℃保存。

试剂一: 临用前48T加入1.25mL去离子水, 96T加入2.5mL去离子水; 充分溶解备用; 用不完的试剂分装-20℃保存。

试剂二: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4℃保存。

试剂三: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4℃保存。

标准品: 标准品为5mM (5 μmol/mL)的对硝基苯酚溶液, 使用前, 平衡到室温; 4℃保存。

标准曲线设置: 按下表所示, 用去离子水将5 μmol/mL标准品稀释为1000、500、250、125、62.5、31.25、15.6nmol/mL标准溶液的标准溶液。

	标准品体积 (μL)	去离子水体积 (μL)	标准品浓度 (nmol/mL)
标准品 1	40μL of 5 μmol/mL	160	1000
标准品 2	100μL of 标准品 1 (1000nmol/mL)	100	500

产品说明书

标准品 3	100μL of 标准品 2 (500nmol/mL)	100	250
标准品 4	100μL of 标准品 3 (250nmol/mL)	100	125
标准品 5	100μL of 标准品 4 (125nmol/mL)	100	62.5
标准品 6	100μL of 标准品 5 (62.5nmol/mL)	100	31.25
标准品 7	100μL of 标准品 6 (31.25nmol/mL)	100	15.6

注意：每次实验，请使用新配制的标准品。

样本制备

动植物组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液匀浆，15,000g，4℃离心 10min，取上清液置冰上待测。

细胞或细菌：收集 500 万细胞或细菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞，离心后弃上清，加入 1mL 提取液，超声波破碎细胞或细菌 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），15,000g，4℃离心 10min，取上清液置冰上待测。

血清（浆）或培养液等液体样本：直接测定，根据预实验确定稀释倍数。

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用 BCA 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 400nm，可见分光光度计去离子水调零。

2. 样本测定：在 96 孔板或微量玻璃比色皿中依次加入下列试剂

	标准 (μL)	空白 (μL)	测定 (μL)	对照 (μL)
试剂一	25	25	25	0
去离子水	0	10	0	25
试剂二	35	35	35	35
标准品	10	0	0	0
样本	0	0	10	10

迅速混匀，放入 37℃保温 30min

试剂三	130	130	130	130
-----	-----	-----	-----	-----

充分混匀，400nm 处测定吸光值 A，计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。每个测定管需设一个对照，空白只需要测一次。

注意：1. 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 $\Delta A_{\text{测}}$ 小于 0.005 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 大于 0.6，样本可用去离子水进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数。

结果计算

1. 标准曲线的绘制：

以标准品浓度为 y 轴， $\Delta A_{\text{标准}}$ 为 x 轴，绘制标准曲线（浓度为 y 轴更方便计算结果）。将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入方程计算出 y 值 (nmol/mL)。

1. 样本 α-GAL 活性计算

(1) 按样本质量计算

单位的定义：每 g 组织在反应体系中每小时产生 1nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活性单位 U。

$$\alpha\text{-GAL 活性 (U/g 质量)} = (y \times V_{\text{反应}}) \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 14 \times y \div W$$

(2) 按液体样本体积计算

单位的定义：每 mL 液体样本在反应体系中每小时产生 1nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活性单位 U。

$$\alpha\text{-GAL 活性 (U/mL)} = (y \times V_{\text{反应}}) \div V_{\text{样}} \div T = 14 \times y$$

(3) 按细菌或细胞数量计算

单位的定义：每 1 万个细菌或细胞在反应体系中每小时产生 1nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位 U。

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

产品说明书

(4) 按蛋白浓度计算

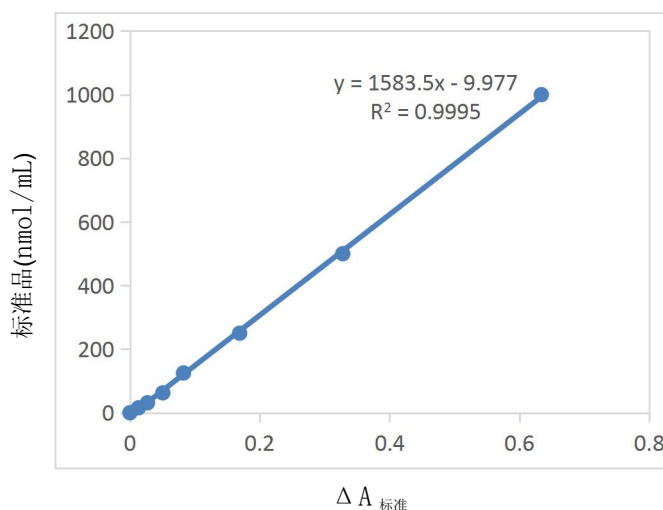
单位的定义：每 mg 组织蛋白在反应体系中每小时产生 1nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位 U。

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

$V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, 0.07mL; W : 样本质量, 0.1g; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.01mL; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL; T : 反应时间, 0.5h; 500: 细胞或细菌总数, 500 万; C_{pr} : 样本蛋白质浓度, mg/mL。

结果展示

典型标准曲线-以下数据和曲线仅供参考，实验者需根据自己的实验建立标准曲线。



注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

- PMK1187 β -半乳糖苷酶 (β -GAL) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1176 糖原检测试剂盒 (微量法)
- PMK1197 总糖检测试剂盒 (微量法)
- PMK1181 还原糖检测试剂盒 (微量法)
- PMK1175 植物可溶性糖检测试剂盒 (微量法)
- PMK1174 血糖检测试剂盒 (微量法)



更多产品详情了解，请关注公众号：