β-半乳糖苷酶（β-GAL）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1187

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

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。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β-GAL 的活性。其原理是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。

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（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 5μmol/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 5μmol/mL	160	1000
标准品 2	100μL of 标准品 1 (1000nmol/mL)	100	500

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 $\Delta A_{测定}=A_{测定}-A_{对照}$， $\Delta A_{标准}=A_{标准}-A_{空白}$。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 $\Delta A_{测}$小于 0.005 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{测}$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， $\Delta A_{标准}$为 x 轴，绘制标准曲线（浓度为 y 轴更方便计算结果）。将 $\Delta A_{测定}$带入方程计算出 y 值（nmol/mL）。
1. 样本β-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。
β-GAL 活性(U/g 质量)＝$(y\times V_{反总})\div(W\times V_{样}\div V_{样总})\div T=14\times y\div W$
（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。
β-GAL 活性(U/mL)＝$(y\times V_{反总})\div V_{样}\div T=14\times y$

（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。

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

（4）按蛋白浓度计算

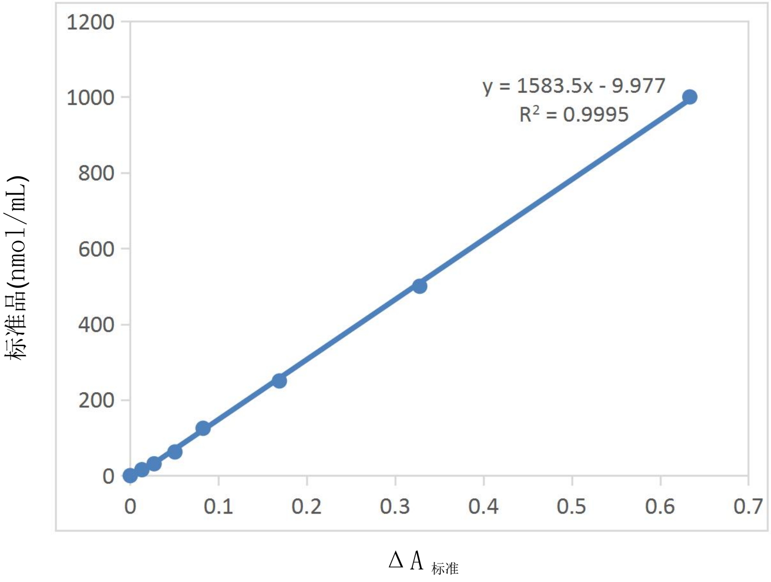
单位的定义：每 mg 组织蛋白在反应体系中每小时产生 1nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位 U。

β-GAL 活性（U/mg prot）=$(y \times V_{反总}) \div (Cpr \times V_{样}) \div T = 14 \times y \div Cpr$

$V_{反总}$：反应体系总体积，0.07mL；W：样本质量，0.1g；$V_{样}$：加入样本体积，0.01mL；$V_{样总}$：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；Cpr：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：

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：