

天
净
沙
系
列

CAT#:170410-24

低温运输和 4℃保存（其中试剂 A
-20℃保存）

TIANDZ

β-半乳糖苷酶活性检测试剂盒

β-Galactosidase Kit

使用手册 V1.0

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506

网址: www.tiandz.com; 电话: 400-6765278; 电邮: order@tiandz.com

产品及特点	β-半乳糖苷酶 (β-Galactosidase, 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半乳糖苷化合物中的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。 本产品是分光光度法测定β-GAL 活力的, 测定原理为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 400 nm 有最大吸收峰, 通过测定吸光值升高速率来计算β-GAL 活性。			
规格及成分		成份	编号	50 管/24 样小纸盒包装
		酶提取液	170410A	50 mL
		β -半乳糖苷酶检测试剂 A	170410B	粉剂 1 瓶
		β -半乳糖苷酶检测溶液 B	170410C	15 mL
		β -半乳糖苷酶检测溶液 C	170410D	50 mL
		使用手册	1 份	
运输及保存	低温运输, 4℃保存, 其中试剂 A 需-20℃保存, 有效期半年。			
自备试剂	无			
使用方法	正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定			
	一、酶液提取			
	1. 细菌或培养细胞: 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 按照细菌或细胞数量 (10^4 个): 酶提取液体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 酶提取液), 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 20%或 200 W, 超声 3 秒, 间隔 10 秒, 重复 30 次); 15000 g 4℃离心 10 分钟, 取上清, 置冰上待测。			
	2. 组织: 按照组织质量 (g): 酶提取液体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1 g 组织, 加入 1 mL 酶提取液), 进行冰浴匀浆。15000 g 4℃离心 10 分钟, 取上清, 置冰上待测。			
	二、测定操作步骤			
	1. 分光光度计预热 30 分钟以上, 调节波长至 400 nm, 蒸馏水调零。			
	2. 取出试剂 A, 临用前向试剂瓶中加入 5 mL 蒸馏水, 充分溶解备用, 制备成溶液 A 工作液 (用不完的溶液 A 仍需-20℃保存)。			

3. 样本测定（在 EP 管中依次加入下列试剂）：

试剂名称	对照管 (μL)	测定管 (μL)
样本	50	50
蒸馏水	200	0
溶液 A 工作液	0	200
溶液 B	250	250
迅速混匀，放入 37℃准确水浴 30 分钟		
溶液 C	1000	1000
充分混匀，400 nm 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、酶活性计算公式

标准条件下测定的回归方程为 $y = 0.00543x - 0.0027$ ；x 为标准品浓度 (nmol/mL)，y 为吸光值。

注：V 反总：反应总体积，0.5 mL；V 样：反应中样本体积，0.05 mL；V 样总：加入酶提取液体积，1 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；500：细胞或细菌总数，500 万；T：反应时间，30 分钟。

1. 按照样本蛋白浓度计算：

酶活性定义：每 mg 组织蛋白每分钟产生 1 nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\beta\text{-GAL 活力}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mg prot}) = [(\Delta A + 0.0027) \div 0.00543 \times V_{\text{反总}}] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 61.39 \times (\Delta A + 0.0027) \div C_{\text{pr}}$$

如果需要另外测定，建议使用本公司 BCA 蛋白质含量测定试剂盒。

2. 按照样本鲜重计算：

酶活性定义：每 g 组织每分钟产生 1 nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\beta\text{-GAL 活力}(\text{nmol}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = [(\Delta A + 0.0027) \div 0.00543 \times V_{\text{反总}}] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 61.39 \times (\Delta A + 0.0027) \div W$$

3. 按细菌或细胞密度计算：

酶活性定义：每 1 万个细菌或细胞每分钟产生 1nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\beta\text{-GAL 活力}(\text{nmol}/\text{min}/10^4\text{cell}) = [(\Delta A + 0.0027) \div 0.00543 \times V_{\text{反总}}] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.123 \times (\Delta A + 0.0027)$$

关联产品	肌酸激酶测试剂盒（CAT#:18-0390）、酸性磷酸酶检测剂盒 (CAT#:18-0540)
-------------	--

20160527xhh