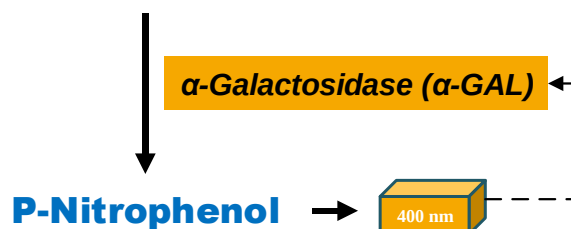




$\alpha$ -半乳糖苷酶 ( $\alpha$ -GAL) 活性检测试剂盒  
 $\alpha$ -Galactosidase ( $\alpha$ -GAL) Activity Assay Kit

**p-Nitrophenyl  $\alpha$ -D-galactopyranoside**



北京盒子生工科技有限公司  
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



## $\alpha$ -半乳糖苷酶 ( $\alpha$ -GAL) 活性检测试剂盒

### $\alpha$ -Galactosidase ( $\alpha$ -GAL) Activity Assay Kit

#### 一、产品描述

$\alpha$ -半乳糖苷酶 ( $\alpha$ -GAL) 广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中，能够催化  $\alpha$ -半乳糖苷化合物中  $\alpha$ -半乳糖苷键水解，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。 $\alpha$ -GAL 对于植物种子的萌发至关重要，能够催化产生 D-半乳糖并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，并在食品工业、生物技术和医药等领域发挥着重要作用。

$\alpha$ -半乳糖苷酶能够分解对-硝基苯- $\alpha$ -D-吡喃半乳糖苷生成对-硝基苯酚，产物在 400 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征  $\alpha$ -半乳糖苷酶的活性。

#### 二、产品内容

| 名称                                                                            | 试剂规格         | 储存条件    | 使用方法及注意事项                |
|-------------------------------------------------------------------------------|--------------|---------|--------------------------|
| 提取液                                                                           | 液体 60 mL×1 瓶 | 4°C保存   | -                        |
| 试剂一                                                                           | 粉剂×1 瓶       | -20°C保存 | 使用前加入 8 mL 蒸馏水充分溶解       |
| 试剂二                                                                           | 液体 20 mL×1 瓶 | 4°C保存   | -                        |
| 试剂三                                                                           | 液体 80 mL×1 瓶 | 4°C保存   | -                        |
| 标准液                                                                           | 液体 1 mL×1 支  | 4°C保存   | 10 $\mu$ mol/mL 对硝基苯酚标准液 |
| 标准稀释液的制备：将 10 $\mu$ mol/mL 对硝基苯酚标准溶液使用蒸馏水稀释至 200、100、50、25、12.5、6.25 nmol/mL。 |              |         |                          |

| 序号               | A     | 1    | 2    | 3   | 4   | 5    | 6    |
|------------------|-------|------|------|-----|-----|------|------|
| 稀释前浓度 (nmol/mL)  | 10000 | 1000 | 1000 | 100 | 50  | 25   | 12.5 |
| 标准液体积 ( $\mu$ L) | 100   | 200  | 100  | 500 | 500 | 500  | 500  |
| 蒸馏水体积 ( $\mu$ L) | 900   | 800  | 900  | 500 | 500 | 500  | 500  |
| 稀释后浓度 (nmol/mL)  | 1000  | 200  | 100  | 50  | 25  | 12.5 | 6.25 |

### 三、产品使用说明

**测定过程中所需要的仪器和试剂：**可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

#### 1.粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按细菌或细胞数量( $10^4$ 个)：提取液体积(mL)为(500-1000)：1的比例（建议1000万细菌或细胞加入1 mL提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率20%或200 W，超声3 s，间隔10 s，重复30次），4℃15000 g离心20 min，取上清置于冰上待测。

②组织：按照组织质量(g)：提取液体积(mL)为1：(5-10)的比例（建议称取0.1 g组织，加入1 mL提取液）处理样品，冰浴匀浆，4℃15000 g离心20 min，取上清置于冰上待测。

③血清（浆）、培养液等液体样本：直接检测或适当稀释后再进行检测。

#### 2.测定步骤

①分光光度计预热30 min以上，调节波长至400 nm，蒸馏水调零。

②在离心管中依次加入下列试剂：

| 试剂                 | 测定管<br>( $\mu$ L) | 对照管<br>( $\mu$ L) | 标准管<br>( $\mu$ L) | 空白管<br>( $\mu$ L) |
|--------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| 试剂一                | 200               | -                 | -                 | -                 |
| 蒸馏水                | -                 | 200               | -                 | -                 |
| 试剂二                | 250               | 250               | -                 | -                 |
| 粗酶液                | 50                | 50                | -                 | -                 |
| 充分混匀，37℃准确反应30 min |                   |                   |                   |                   |
| 标准稀释液              | -                 | -                 | 500               | -                 |
| 蒸馏水                | -                 | -                 | -                 | 500               |
| 试剂三                | 1000              | 1000              | 1000              | 1000              |
| 充分混匀，室温静置2 min     |                   |                   |                   |                   |

**吸光值测定：**取1 mL反应液于1 mL玻璃比色皿中，测定400 nm处吸光值，记为A测定、A对照、A标准和A空白；计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。注：每个测定管均需设一个对照管，空白管只需测定1-2次。

**标准曲线的建立：**以200、100、50、25、12.5、6.25 nmol/mL为横坐标(x)，以其对应的 $\Delta A$ 标准为纵坐标(y)绘制标准曲线，得到标准方程 $y = kx + b$ ，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入公式中得到x(nmol/mL)。

### 3. $\alpha$ -半乳糖苷酶 ( $\alpha$ -GAL) 活性计算

#### ①按组织样本蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每小时产生 1 nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\alpha\text{-GAL (U/mg prot)} = \frac{x \times V_{\text{反总}}}{V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{20 \times x}{\text{Cpr}}$$

#### ②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织在每小时生成 1 nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\alpha\text{-GAL (U/g)} = \frac{x \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{20 \times x}{W}$$

#### ③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 1 万个细菌或细胞每小时生成 1 nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\alpha\text{-GAL (U/10}^4\text{ cell)} = \frac{x \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{20 \times x}{\text{细菌或细胞数量}}$$

#### ④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每小时生成 1 nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活性单位。

$$\alpha\text{-GAL (U/mL)} = \frac{x \times V_{\text{反总}}}{V_{\text{样}} \times T} = 20 \times x$$

**注释：** V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.05 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积，0.5 mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细胞或细菌数量，以万计；T：反应时间，0.5 h。

### 四、注意事项

①若测定吸光值超出标准线性吸光值范围，可适当增加样本量或将粗酶液适当稀释后再进行测定，计算时相应修改；

②为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

**For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.**

