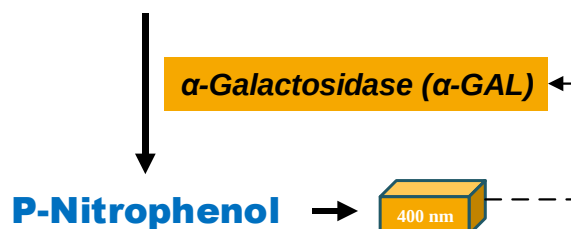




α -半乳糖苷酶 (α -GAL) 活性检测试剂盒
 α -Galactosidase (α -GAL) Activity Assay Kit

p-Nitrophenyl α -D-galactopyranoside



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



α -半乳糖苷酶 (α -GAL) 活性检测试剂盒

α -Galactosidase (α -GAL) Activity Assay Kit

一、产品描述

α -半乳糖苷酶 (α -GAL) 广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中，能够催化 α -半乳糖苷化合物中 α -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。 α -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。

α -半乳糖苷酶能够分解对-硝基苯- α -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 α -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 120 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂一	粉剂×1 瓶	-20°C保存	使用前加入 4 mL 蒸馏水充分溶解
试剂二	液体 5 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂三	液体 20 mL×1 瓶	4°C保存	-
标准液	液体 1 mL×1 支	4°C保存	10 μ mol/mL 对硝基苯酚标准液
标准稀释液的制备：将 10 μ mol/mL 对硝基苯酚标准液使用蒸馏水稀释至 300、200、100、50、25、12.5 nmol/mL。			

序号	A	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度 (nmol/mL)	10000	1000	1000	1000	100	50	25
标准液体积 (μ L)	100	300	200	100	500	500	500
蒸馏水体积 (μ L)	900	700	800	900	500	500	500
稀释后浓度 (nmol/mL)	1000	300	200	100	50	25	12.5

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/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板、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/酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 400 nm，蒸馏水调零。

②在 96 孔板或离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	对照组 (μL)	标准组 (μL)	空白组 (μL)
试剂一	25	-	-	-
蒸馏水	-	25	-	-
试剂二	35	35	-	-
粗酶液	10	10	-	-
充分混匀，37℃准确反应 30 min				
标准稀释液	-	-	70	-
蒸馏水	-	-	-	70
试剂三	130	130	130	130
充分混匀，室温静置 2 min				

吸光值测定：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 ΔA 测定=A 测定-A 对照， ΔA 标准=A 标准-A 空白。注：每个测定组均需设一个对照组，空白组只需测定 1-2 次。

标准曲线的建立：以 300、200、100、50、25、12.5 nmol/mL 为横坐标 (x)，以其对应的 ΔA 标准为纵坐标 (y) 绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 ΔA 测定带入公式中得到 x (nmol/mL)。

3. α -半乳糖苷酶 (α -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。

$$\alpha\text{-GAL (U/mg prot)} = \frac{x \times V_{\text{反总}}}{V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{14 \times x}{\text{Cpr}}$$

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。

$$\alpha\text{-GAL (U/g)} = \frac{x \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{14 \times x}{W}$$

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。

$$\alpha\text{-GAL (U/10}^4\text{ cell)} = \frac{x \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{14 \times x}{\text{细菌或细胞数量}}$$

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。

$$\alpha\text{-GAL (U/mL)} = \frac{x \times V_{\text{反总}}}{V_{\text{样}} \times T} = 14 \times x$$

注释：V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.01 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积，0.07 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，建议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.

