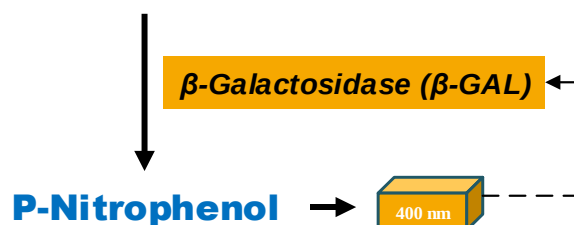




β -半乳糖苷酶 (β -GAL) 活性检测试剂盒
 β -Galactosidase (β -GAL) Activity Assay Kit

p-Nitrophenyl β -D-galactopyranoside



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



β-半乳糖苷酶（β-GAL）活性检测试剂盒

β-Galactosidase (β-GAL) Activity Assay Kit

一、产品描述

β-半乳糖苷酶（β-GAL）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，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，还可以多糖代谢、细胞壁组分代谢过程中催化多糖、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，在食品工业、生物技术和医药等领域发挥着重要作用。

β-半乳糖苷酶能够分解对-硝基苯-β-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 β-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 μmol/mL 对硝基苯酚标准液
标准稀释液的制备：将 10 μmol/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（μL）	100	200	100	500	500	500	500
蒸馏水体积（μL）	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 (μ L)	对照管 (μ L)	标准管 (μ L)	空白管 (μ 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 ΔA 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. β -半乳糖苷酶 (β -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。

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

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。

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

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。

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

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。

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

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.

