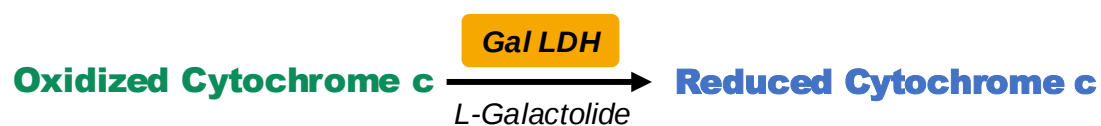




L-半乳糖苷-1,4-内酯脱氢酶 (Gal LDH) 活性检测试剂盒

L-Galactono-1,4-Lactone Dehydrogenase (Gal LDH) Activity Assay Kit



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



L-半乳糖苷-1,4-内酯脱氢酶 (Gal LDH) 活性检测试剂盒

L-Galactono-1,4-Lactone Dehydrogenase (Gal LDH) Activity Assay Kit

一、产品描述

抗坏血酸 (AsA) 可作为辅酶、抗氧化剂、自由基清除剂、电子供体/受体和生物合成底物等，在生物代谢过程中发挥着重要作用，L-半乳糖-1,4-内酯脱氢酶 (Gal LDH) 是催化植物抗坏血酸生物合成 (L-半乳糖途径) 的最后一步关键酶，对植物体内抗坏血酸含量的积累起着至关重要的作用。

L-半乳糖苷-1,4-内酯脱氢酶可催化 L-半乳糖内酯还原氧化型细胞色素 c (Cyt c) 为还原型 Cyt c，产物在 550 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征 L-半乳糖苷-1,4-内酯脱氢酶的活性。

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避光保存	使用前加入 18 mL 蒸馏水充分溶解 (配置后-20°C分装保存，避免反复冻融)
试剂二	粉剂×1 瓶	4°C避光保存	使用前加入 3 mL 蒸馏水充分溶解

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（光径 10 mm）/96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、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）

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°C 12000 g 离心 10 min，取上清即为**粗酶液**，置于冰上待测。

2.测定步骤

①分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 550 nm，蒸馏水调零。

②根据使用量取出**试剂一** 25°C预热 30 min 以上。

③在 96 孔板或微量玻璃比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	空白组 (μL)
粗酶液	20	-
蒸馏水	-	20
试剂一	160	160
试剂二	20	20

吸光值测定：①充分混匀并立即开始计时，测定 10 s（总时间）时 550 nm 处吸光值，记为 A1 测定和 A1 空白；②25℃恒温准确反应 120 s，测定 130 s（总时间）时 550 nm 处吸光值，记为 A2 测定和 A2 空白；③计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A2_{\text{测定}} - A1_{\text{测定}}$ ， $\Delta A_{\text{空白}} = A2_{\text{空白}} - A1_{\text{空白}}$ ， $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。
注：空白组只需测定 1-2 次。

3. L-半乳糖苷-1,4-内酯脱氢酶（Gal LDH）活性计算

3.1 使用 96 孔板测定的计算公式

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：25℃条件下每 mg 组织蛋白每分钟还原 1 μmol Cyt c 定义为一个酶活力单位。

$$\text{Gal LDH (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^6}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{0.578 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：25℃条件下每 g 组织每分钟还原 1 μmol Cyt c 定义为一个酶活力单位。

$$\text{Gal LDH (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^6}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{0.578 \times \Delta A}{W}$$

3.2 使用微量比色皿测定的计算公式

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：25℃条件下每 mg 组织蛋白每分钟还原 1 μmol Cyt c 定义为一个酶活力单位。

$$\text{Gal LDH (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^6}{\epsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{0.289 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：25℃条件下每 g 组织每分钟还原 1 μmol Cyt c 定义为一个酶活力单位。

$$\text{Gal LDH (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^6}{\epsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{0.289 \times \Delta A}{W}$$

注释：V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，20 μL =0.02 mL；
V 反总：反应体系总体积，200 μL =2 $\times 10^{-4}$ L； ϵ ：还原型 Cyt c 摩尔消光系数，17.3 $\times 10^3$ L/mol/cm； d_1 ：
96 孔板光径，0.5 cm； d_2 ：微量玻璃比色皿光径，1 cm；Cpr：粗酶液蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g； 10^6 ：单位换算系数，1 mol=1 $\times 10^6$ μmol ；T：反应时间，120 s=2 min。

四、注意事项

①准确在 10 s 和 130 s 处完成读数，以保证实验结果的准确性和重复性；若使用 96 孔板进行检测应使用多道移液器且分批进行检测，以确保组间反应时间一致；

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.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Liaodong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

