

α -半乳糖苷酶 (α -GAL) 活性检测试剂盒 (可见分光光度法)

产品货号: BA1013

产品规格: 50管/24样

产品简介:

α -GAL (EC 3.2.1.22)广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中,能专一地催化 α -半乳糖苷键的水解,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,种子萌发初期,其催化产生的D-半乳糖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。

α -GAL分解对-硝基苯- α -D-吡喃半乳糖苷生成对-硝基苯酚,后者在400nm有最大吸收峰,通过测定吸光值升高速率来计算 α -GAL活性。

注意:实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品组成:

产品组成	规格	保存条件
提取液	液体50mL×1瓶	4℃
试剂一	粉剂×1瓶	-20℃
试剂二	液体15mL×1瓶	4℃
试剂三	液体80mL×1瓶	4℃
标准品	液体1mL×1支	4℃

溶液的配制:

1. 试剂一: 临用前每瓶加入5mL双蒸水,充分溶解备用;用不完的试剂仍-20℃保存;
2. 标准品: 5 μ mol/mL的对硝基苯酚溶液。

需自备的仪器和用品:

可见分光光度计、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、1mL玻璃比色皿、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

操作步骤 (仅供参考):

一、样本处理 (可适当调整待测样本量,具体比例可以参考文献)

1. 细菌或培养细胞的处理: 收集细菌或细胞到离心管内,离心后弃上清;按照每1000万细菌或细胞加入1mL提取液,超声波破碎细菌或细胞 (功率20%,超声3s,间隔10s,重复30次),15000g,4℃,离心20分钟,取上清,置冰上待测。
2. 组织的处理: 称取约0.1g组织,加入1mL提取液进行冰浴匀浆;15000g,4℃,离心20min,取上清,置冰上待测。

二、测定步骤

1. 分光光度计预热30min以上,调节波长至400nm,蒸馏水调零。
2. 标准液的处理: 用蒸馏水将标准液稀释至200、100、50、25、12.5、6.25、0nmol/mL。
3. 样本测定 (在1.5mLEP管中依次加入下列试剂)

试剂名称 (μ L)	测定管	对照管	标准管
试剂一	200	-	-



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

蒸馏水	-	200	-
试剂二	250	250	-
样本	50	50	-
迅速混匀，放入37℃准确水浴30min			
标准液	-	-	500
试剂三	1000	1000	1000
充分混匀，室温静置2min后，400nm处测定吸光值A。ΔA=A测定管-A对照管。			

三、α-GAL活性计算

1. 标准曲线的建立：

根据标准管的吸光度（y，各标准管吸光值减去浓度为零的标准管的吸光值）和浓度（x，nmol/mL）建立标准曲线，将ΔA（y）带入标准曲线中，计算样本生成的产物量x（nmol/mL）。

2. α-GAL活性计算

（1）按样本蛋白浓度计算

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

$$\alpha\text{-GAL活力(U/mg prot)} = (x \times V_{\text{反总}}) \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 20x \div C_{\text{pr}}$$

蛋白浓度需要另外测定。

（2）按样本质量计算

单位的定义：每g组织每小时产生1nmol对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

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

（3）按细菌或细胞数量计算

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

$$\alpha\text{-GAL活力(U/10}^4\text{ cell)} = (x \times V_{\text{反总}}) \div (1000 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.02x$$

Cpr: 样本蛋白质浓度，mg/mL；V反总：反应体系总体积，0.5mL；V样：加入反应体系中样本体积，0.05mL；V样总：加入提取液体积，1mL；W：样本质量，g；1000：细胞或细菌总数，1000万；T：反应时间，0.5h。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com