

乳糖-半乳糖含量试剂盒（微板法）

产品货号：BA2760

产品规格：48样

产品简介：

乳糖在 β -半乳糖苷酶作用下分解成半乳糖和葡萄糖，半乳糖接着在含有半乳糖脱氢酶的复合酶作用下被分解，同时使NAD⁺还原成NADH，通过检测340nm下NADH的增加量，分别计算得到乳糖和半乳糖的含量。

测试盒组成和配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 $\mu\text{L} \times 1$ 支	2-8℃	临用前甩几下或离心，使微量液体落入底部，再加0.6mL蒸馏水混匀。
试剂二	液体5mL $\times 1$ 瓶	2-8℃	
试剂三	粉剂mg $\times 1$ 支	2-8℃	临用前甩几下或离心，使粉剂落入底部，再加1.1mL蒸馏水溶解备用。
试剂四	液体12mL $\times 1$ 瓶	2-8℃	
试剂五	液体 $\mu\text{L} \times 1$ 支	-20℃	临用前甩几下或离心，使微量液体落入底部，再加1.1mL蒸馏水混匀。
标准品	乳糖标品（1mg/mL）	2-8℃	仅用来鉴定试剂是否正常
	半乳糖标品（0.5mg/mL）		

所需的仪器和用品：

酶标仪、96孔板、离心机、水浴锅、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水。

乳糖(Lactose)和半乳糖(D-Galactose)含量测定：

建议正式实验前选取2个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1. 样本制备：

- ① 组织样本：0.1g组织样本(水分充足的样本建议取0.2g左右)，加1mL的蒸馏水研磨，粗提液全部转移到EP管中，12000rpm，常温离心10min，上清液待测。
- ② 液体样品：近似中性的澄清液体样本可直接检测；若为酸性样本则需先用NaOH(2M)调PH值约7.4，然后室温静置30min，取澄清液体直接检测。

2. 上机检测：

- ① 酶标仪预热30min以上，调节波长到340nm。
- ② 所有试剂解冻至室温(25℃)，或可放在25℃条件下水浴5-15min，为了减少操作误差，建议使用排枪。
- ③ 做实验前可以选取几个样本做预测定，若待检测指标含量较高可通过用蒸馏水稀释找出适合本次检测样本的稀释倍数D。
- ④ 依次在96孔板中加入：



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

试剂名称 (μL)	乳糖		半乳糖	
	测定管	空白管 (仅做一次)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	10		10	
蒸馏水	20	30	30	40
试剂一	10	10		
试剂二	30	30	30	30
混匀, 25℃条件下孵育20min				
试剂三	10	10	10	10
试剂四	110	110	110	110
混匀, 25℃条件下孵育5min于340nm处读取各管的A1值				
试剂五	10	10	10	10
混匀, 25℃条件下反应20min于340nm处读取各管的A2值(若A值继续增加, 需延长反应时间, 直至2分钟内的吸光值保持不变)				

- 【注】**1. 若A2值大于1则需用蒸馏水对样本进行稀释, 或者降低样本加样体积V1(如减至5μL, 则蒸馏水相应增加), 则稀释倍数D或V1需代入公式重新计算。
2. 若A2-A1的差值小于0.1则可增加样本取样质量W或增加样本加样体积V1(如增加至20μL, 则蒸馏水相应减少), 则改变后的W或V1需代入公式重新计算。

结果计算:

$$\Delta A_{\text{乳糖+半乳糖}} = (A2 - A1)_{\text{乳糖测定管}} - (A2 - A1)_{\text{乳糖空白管}}$$

$$\Delta A_{\text{半乳糖}} = (A2 - A1)_{\text{半乳糖测定管}} - (A2 - A1)_{\text{半乳糖空白管}}$$

$$\Delta A_{\text{乳糖}} = \Delta A_{\text{乳糖+半乳糖}} - \Delta A_{\text{半乳糖}}$$

1. 按样本质量计算:

$$\text{乳糖含量 (mg/g鲜重)} = [\Delta A_{\text{乳糖}} \div (\epsilon \times d)] \times V2 \times 10^3 \times 342.3 \div (V1 \div V \times W) = 2.2 \times \Delta A_{\text{乳糖}} \div W \times D$$

$$\text{半乳糖含量 (mg/g鲜重)} = [\Delta A_{\text{半乳糖}} \div (\epsilon \times d)] \times V2 \times 10^3 \times 180.16 \div (V1 \div V \times W) = 1.159 \times \Delta A_{\text{半乳糖}} \div W \times D$$

2. 按照体积计算:

$$\text{乳糖含量 (mg/mL)} = [\Delta A_{\text{乳糖}} \div (\epsilon \times d)] \times V2 \times 10^3 \times 342.3 \div V1 \times D = 2.2 \times \Delta A_{\text{乳糖}} \times D$$

$$\text{半乳糖含量 (mg/mL)} = [\Delta A_{\text{半乳糖}} \div (\epsilon \times d)] \times V2 \times 10^3 \times 180.16 \div V1 \times D = 1.159 \times \Delta A_{\text{半乳糖}} \times D$$

ϵ ---NADH的摩尔吸光系数为 $6.22 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$; d---光径距离, 0.5cm; V---提取液体积, 1mL; V1---样本体积, 10μL=0.01mL; V2---反应总体积, 200μL= $2 \times 10^{-4} \text{ L}$; 半乳糖分子量---180.16; W---样本质量, g; D---稀释倍数, 未稀释即为1。



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