β-半乳糖苷酶（β-Galactosidase, β-GAL）试剂盒说明书

（货号：G0524W 微板法 48 样）

一、产品简介：

β-半乳糖苷酶（β-GAL，EC 3.2.1.23)又称β-D-半乳糖苷半乳糖基转移酶，简称乳糖酶，专一性作用于β-D-半乳糖苷类化合物的酶，广泛用于生化分析、医学和食品等领域。

本试剂盒提供一种简单，灵敏，快速的测定方法，β-GAL分解对-硝基苯-β-D-吡喃半乳糖苷生成对-硝基苯酚，后者在405nm有最大吸收峰，通过测定吸光值升高速率来计算β-GAL活性。

二、测试盒组成和配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 60mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉剂 mg×1 支	4℃保存	临用前加 1.5ml 水
试剂二	液体 5mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	液体 18mL×1 瓶	4℃保存	
标准品	粉剂×1 支	4℃保存	若重新做标曲，则用到该试剂

三、所需的仪器和用品：

酶标仪、96 孔板、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、研钵、冰。

四、β-半乳糖苷酶（β-GAL）活性测定：

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：称取约 0.1g 组织（水分充足的样本可取 0.5g），加入 1mL 提取液，冰浴匀浆，然后 12000rpm，4℃，离心 10min，取上清作为粗体液，置于冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例进行提取

② 液体样本：直接检测。若浑浊，离心后取上清检测。

2、上机检测：

① 酶标仪预热 30min 以上，温度设定 37℃，波长设定为 405nm。

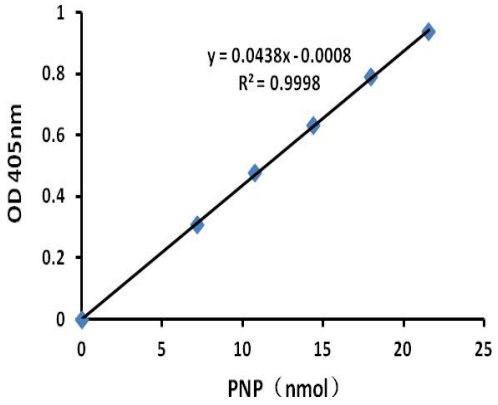
② 在 EP 管中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管	对照管
样本	10	10
试剂一	25	
蒸馏水		25
试剂二	35	35
迅速混匀，37℃保温 30min		
试剂三	180	180
混匀，取 200μL 转移到 96 孔板中， 405nm 处测定吸光值 A，ΔA=A 测定-A 对照（每个测定管需设一个对照管）。		

【注】：若ΔA 过小，可以延长保温时间（如：40min 或更长），重新调整的反应时间值要代入计算公式重新计算。

五、结果计算：

1、标准曲线方程：y = 0.0438x - 0.0008：x 是标准品 PNP 的质量（nmol），y 是ΔA。



2、按样本蛋白浓度计算：

单位的定义：每 mg 组织蛋白每分钟产生 1nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活性单位。

β-GAL 活性(nmol/min/mg prot)=[(ΔA-0.0008) ÷0.0438]÷(V1×Cpr)÷T=76.1×(ΔA-0.0008)÷Cpr

3、按样本鲜重计算：

单位的定义：每 g 组织每分钟产生 1nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活性单位。

β-GAL 活性(nmol/min/g 鲜重)= [(ΔA-0.0008) ÷0.0438]÷(W×V1÷V)÷T=76.1×(ΔA-0.0008) ÷W

4、按液体体积：

单位的定义：每毫升液体每分钟产生 1nmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活性单位。

α-GAL 活性(nmol/min/mL)= [(ΔA-0.0008) ÷0.0438]÷V1÷T=76.1×(ΔA-0.0008)

V----加入提取液体积，1mL；

V1----加入反应体系中样本体积，0.01mL；

W----样本质量，g；

T----反应时间，30min；

PNP 对分子质量----139.11

Cpr----样本蛋白质浓度，mg/mL，建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。

附：标准曲线制作过程：

1 制备标准品母液（1mg/mL）：向标准品 EP 管里面加入 1ml 蒸馏水。

2 把母液稀释成以下浓度梯度的标准品：0, 0.1, 0.15, 0.2, 0.25, 0.3mg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。

3 在 EP 管加入：10μL 标准品+25μL 蒸馏水+35μL 试剂二+180μL 试剂三，混匀，取 200μL 至 96 孔板中，于 405nm 下读取吸光值。

4 根据结果制作标准曲线。