

## D-Galactose Content Kit

### 半乳糖含量试剂盒说明书

货号: G0584W | 方法: 微板法 | 规格: 48 样

#### 一、产品简介:

半乳糖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, NADH 与特异显色剂反应生成于 450nm 处有特征吸收峰的黄色物质, 通过检测该物质的增加量, 计算得到半乳糖的含量。

#### 二、测试盒组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	粉体 mg×1 支	4°C保存	临用前甩几下或离心, 使粉体落入底部, 再加 0.55mL 蒸馏水溶解备用。
试剂二	液体 0.5mL×1 支	4°C保存	
试剂三	液体 8mL×1 瓶	4°C保存	
试剂四	液体 μL×1 支	4°C保存	临用前甩几下或离心, 使微量液体落入底部, 再加 0.55mL 蒸馏水混匀备用。
标准品	液体 mL×1 支	4°C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、离心机、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水。

#### 四、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 **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 30 min 以上, 调节波长到 450nm。
- ② 所有试剂解冻至室温 (25°C), 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:

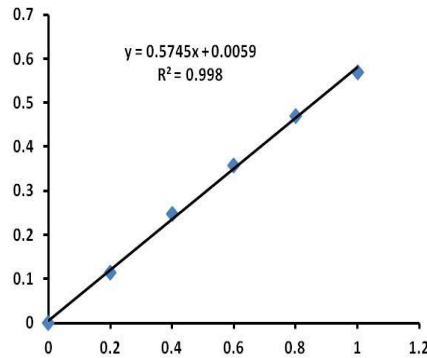
试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	10	
蒸馏水	30	40
试剂一	10	10
试剂二	10	10
试剂三	130	130
混匀, 25°C条件下孵育5min于450nm处读取各管的A1值		
试剂四	10	10
混匀, 25°C条件下反应20min于450nm处读取各管的A2值		

(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),  $\Delta A_{\text{半乳糖}} = (A_2 - A_1)_{\text{测定管}} - (A_2 - A_1)_{\text{空白管}}$ 。

注意: 本操作流程适用于绝大多数常规样本检测, 实验条件可根据实际样本状态适度微调; 针对特殊类型样本, 我司技术支持可提供专属优化建议。

## 五、结果计算:

1、标准曲线方程为  $y = 0.5745x + 0.0059$ ; x 为标准品质量 ( $\mu\text{g}$ ), y 为吸光值  $\Delta A$ 。



标准曲线示意图

说明: 标准曲线由标准品测定获得, 具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

2、按样本质量计算:

$$\begin{aligned} \text{半乳糖含量}(\mu\text{g/g鲜重}) &= [(\Delta A - 0.0059) \div 0.5745] \div (V_1 \div V \times W) \times D \\ &= 174.1 \times \Delta A \div W \times D \end{aligned}$$

3、按照体积计算:

$$\text{半乳糖含量}(\mu\text{g/mL}) = [(\Delta A - 0.0059) \div 0.5745] \div V_1 \times D = 174.1 \times \Delta A \times D$$

V---提取液体积, 1mL;

V1---样本体积, 10 $\mu\text{L}$ =0.01mL;

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。