

植物β-半乳糖苷酶(β-GAL)活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PMHF3-C24	β-半乳糖苷酶(β-GAL)	24T	常量法
PMHF3-C48	活性检测试剂盒	48T	

一、测定意义：

β-半乳糖苷酶水解乳糖中的 β-1, 4-D 半乳糖苷键，使其降解成为半乳糖和葡萄糖，同时具有半乳糖苷的转移作用。

二、测定原理：

以对硝基苯-β-D-半乳糖苷为底物，水解生成对硝基酚，产物显黄色，在 400nm 有特征吸收峰。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(24T)	试剂装量(48T)	保存条件
提取液	液体 30mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 30mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×2 瓶	-20℃保存
试剂二的配制：用时每瓶粉剂加入试剂一 6mL，混匀充分溶解，-20℃分装保存 1 个月。			
试剂三	液体 30mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品 (1mg/mL)	液体 1mL×1 支	液体 1mL×1 支	2-8℃保存

四、操作步骤：

样本前处理

取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，按照组织质量 (g)：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液），旋涡混匀抽提 3-5 分钟或者使用组织破碎仪冰浴提取，8000g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

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、测定前将试剂恢复至常温；

3、将 1mg/mL 标准品用蒸馏水依次稀释至 0、3.125、6.25、12.5、25、50、100μg/mL 标准液备用；

4、操作表（在离心管中加入以下试剂）：

试剂名称	测定管	对照管	空白管	标准管
样品 (μL)	50	50	-	-
蒸馏水 (μL)	-	-	50	
标准品 (μL)	-	-	-	50
试剂一 (μL)	400	400	400	400
试剂二 (μL)	100	-	100	100
混匀，37℃孵育 30min。				
试剂三 (μL)	500	500	500	500
试剂二 (μL)	-	100	-	-
混匀，静置 3min，空白管调零，于波长 400nm 测定各管吸光度，分别记为 A _{测定} ，A _{对照} ，A _{标准} ，A _{空白} ，计算ΔA _{测定} =A _{测定} -A _{对照} ， ΔA _{标准} =A _{标准} -A _{空白} 。				

五、β-半乳糖苷酶(β-GAL)活性计算：

1、标准曲线绘制：以吸光度值为横坐标，标准品浓度为纵坐标，绘制标准曲线 $y=kx+b$ ，x 为吸光度值，y 为标准品浓度 (μg/mL)。

根据标准曲线，将ΔA_{测定}带入公式计算出样本浓度 (y，μg/mL)；

2、按样本质量计算：

单位定义：每克组织每小时催化产生 1μg 对硝基酚的量为一个活力单位。

计算公式： $\beta\text{-GAL (U/g)} = y \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 2 \times y \div W$

3、按蛋白浓度计算：

单位定义：每毫克蛋白每小时催化产生 1μg 对硝基酚的量为一个活力单位。

计算公式： $\beta\text{-GAL (U/mg prot)} = y \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 2 \times y \div C_{\text{pr}}$

$V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.05mL; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1 mL; T:

反应时间, 30 min=0.5h; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样

本质量 g.

六、注意事项:

- 1、比色时, 溶液呈现淡黄色, 在 2h 内保持稳定。
- 2、不同植物样本的 β -半乳糖苷酶差异较大, 根据样本活性可以适当增加或者减少称取样本重量, 也可增加反应时间。
- 3、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。

【厂家信息】

生产企业: 南京陌凡生物科技有限公司

地址: 南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期: 2025 年 4 月 7 日

修改日期: 2025 年 4 月 7 日