

β-半乳糖苷酶(β-GAL)检测试剂盒

(用于血清、血浆、细胞培养上清液和其它生物体内)

原理

LacZ 是常用的报告基因,作为转染的参照体系。其蛋白产物 β-半乳糖苷酶(β-galactosidase)性质稳定,活性容易测定。本试剂盒提供经典的 ONPG 底物成色法,β-半乳糖苷酶催化无色的 ONPG (*o*-nitro-phenyl-β-D-galactopyranoside)转变成黄色产物,通过测定 OD 值,可获得 β-半乳糖苷酶的相对活性。使用通用裂解缓冲液,能与其他类型的报告基因检测和蛋白含量检测兼容。

本实验采用酶法在酶标板上反应,标准品和样品中的 β-GAL 与 ONPG 底物工作液显色,在 405nm 处测 OD 值,β-GAL 浓度与 OD 值成正比,可通过绘制标准曲线求出标本中β-GAL 浓度。

试剂盒组成 (2-8℃保存)

酶标板 (Coated Wells)	96孔	标准品 (Standards): 100U/ml	0.5ml
底物工作液 (ONPG Solution)	12ml	坐标纸	1张

准备试剂与收集血样

1. 收集标本: 血清、血浆 (EDTA、柠檬酸盐、肝素抗凝)、尿液、细胞裂解液、组织匀浆等尽早检测, 2-8℃保存 48 小时; 更长时间须冷冻 (-20℃或-70℃) 保存, 避免反复冻融。血清、血浆、细胞培养上清可能需用水稀释, 请先做预实验, 以确定稀释倍数。
2. 标准品液配制: 设标准管 8 管, 第一管加蒸馏水 900ul, 第二至第八管加入蒸馏水 500ul。在第一管中加入 100U/ml 的标准品溶液 60ul 混匀后用加样器吸出 500ul, 移至第二管。如此反复作对倍稀释, 从第七管中吸出 500ul 弃去。第八管为空白对照。

检测程序

1. 加样: 每孔各加入标准品或待测样品 20ul。
2. 每孔加入底物工作液 100ul, 置 37℃暗处反应 15 分钟。
3. 30 分钟内用酶标仪在 405nm 处测吸光值。

结果计算与判断

1. 所有 OD 值都应减除空白值后再行计算。
2. 以标准品 6250、3125、1563、781、391、195、98、U/L 为横坐标, OD 值为纵坐标, 在坐标纸上作图, 画出标准曲线。
3. 根据样品 OD 值在该曲线图上查出相应 β-GAL 含量。

试剂盒性能

1. 灵敏度: 最小的β-GAL 检测浓度小于 50U/L。
2. 特异性: 可同时检测重组或天然的β-GAL。不与其他细胞因子有交叉反应。
3. 重复性: 板内、板间变异系数均小于 10%。

注意事项

1. 以上标准孔及待测样品均建议做复孔, 每次测定应同时做标准曲线。
2. 板条开封后剩余板条要再封好, 保持板条干燥。
3. 本试剂盒宜置 4℃冰箱保存。
4. 本试剂盒仅用于科研, 不能用于临床诊断!
5. 样本如果浑浊需要离心或稀释后检测。