

L-半乳糖苷-1,4-内酯脱氢酶(Gal LDH)活性检测试剂盒

Gal LDH Assay Kit

可见分光光度法

货号：AK268

规格：50T/48S

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
AK268-A	50mL×1 瓶	4℃保存；
AK268-B	粉剂×1 瓶（棕色）	4℃避光保存；临用前加入 40mL 蒸馏水，充分溶解。
AK268-C	粉剂×1 管	4℃保存；临用前加入 5mL 蒸馏水，充分溶解。

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介：

意义：L-半乳糖-1,4-内酯脱氢酶 (L-galactose-1,4-lactone dehydrogenase, Gal LDH) 是催化植物抗坏血酸 (Ascorbic acid, AsA) 生物合成 (L-半乳糖途径) 的最后一步关键酶，对提高植物 AsA 含量，增强其抗逆境胁迫能力具有非常重要的作用。

原理：Gal LDH 催化 L-半乳糖内酯还原细胞色素 C (Cytochrome C, Cyt c)，还原型 Cyt c 在 550nm 有吸收峰；测定还原型 Cyt c 增加速率，来计算 Gal LDH 活性。

自备用品：

可见分光光度计、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、1ml 石英比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

粗酶液提取：

按照组织质量 (g)：AK268-A 体积 (mL) 为 1：5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL AK268-A) 进行冰浴匀浆。13000g，4℃离心 10min，取上清置冰上待测。

测定步骤

1. 分光光度计预热 30 min，调节波长到 550nm，蒸馏水调零。
2. AK268-B 在 25℃水浴锅中预热 30 min。
3. 在 1ml 玻璃比色皿中依次加入下列试剂

试剂名称	测定管 (μL)
上清液	100
AK268-B	800
AK268-C	100
迅速混匀后于 550nm 比色，记录 10s 和 130s 的吸光值 A1 和 A2， $\Delta A = A2 - A1$ 。	

Gal LDH 酶活性计算公式：

(1) 按蛋白浓度计算

Gal LDH 活性单位定义：25℃中每毫克蛋白每分钟还原 1μmol Cyt c 为 1 个酶活单位。

$$\text{Gal LDH } (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg prot}) = \Delta A \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \times 10^6 \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div T = 289 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

(2) 按样本质量计算

Gal LDH 活性单位定义：25℃中每克样品每分钟还原 1μmol Cyt c 为 1 个酶活单位。

$$\text{Gal LDH } (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}) = \Delta A \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \times 10^6 \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 289 \times \Delta A \div W$$

注： ϵ ：还原型 Cyt c 摩尔消光系数， $17.3 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$ ；d：比色皿光径(cm)，1cm；V 反总：反应体系总体积， $1 \text{ mL} = 0.001 \text{ L}$ ； 10^6 ： $1 \text{ mol} = 1 \times 10^6 \mu\text{mol}$ ；V 样：加入反应体系中上清液体积， $20 \mu\text{L} = 0.02 \text{ mL}$ ；V 样总：提取液体积，1 mL；Cpr：上清液蛋白浓度，mg/mL，T：反应时间，2min。

※ 蛋白定量检测建议使用本公司：BCA Protein Assay Kit (C05-02001)

注意事项：

AK268-B, AK268-C 配制好后 3 天内使用完。