

乳糖(Lactose)含量试剂盒

微板法

本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断

使 用 说 明 书

货号: JL-T1072

有效期: 6个月

规格: 48T(23S)/96T(47S)

保存温度: 2-8°C和-20°C

实验原理：

乳糖在 β -半乳糖苷酶作用下分解成半乳糖和葡萄糖，葡萄糖被特异性酶氧化产生与显色剂反应的（粉）红色产物，该产物在 510nm 处有最大吸收峰，通过校正游离的葡萄糖背景值进而得到乳糖含量。

检测范围：0.01-1.8mg/mL 灵敏度：0.01mg/mL

注意事项：

1. 不能使用过期产品，不同货号 and 批号组分不得混用。
2. 本试剂开封后请尽快使用，以免空气、采样污染引起试剂变质。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 如果可能传播疾病，所有的样品都应管理好，按照规定的程序处理样品和检测装置。
5. 试剂严格按保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。试剂盒中如有提供粉剂，使用前请甩几下，使粉剂落入底部。

产品组成:

试剂名称	规格 (48T/23S)	规格 (96T/47S)	保存条件
试剂 A1	3mL×1 瓶	6mL×1 瓶	2-8°C保存, 避光
试剂 A2	3mL×1 瓶	6mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂一	30μL×1 瓶	30μL×2 瓶	-20°C保存
试剂二	1.5mL×1 瓶	3mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂三	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	-20°C保存
试剂四	5mL×1 瓶	10mL×1 瓶	2-8°C保存, 避光
试剂五	5mL×1 瓶	5mL×2 瓶	2-8°C保存
标准品	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8°C保存

所需仪器耗材及试剂:

离心机、酶标仪、可调式移液器、蒸馏水、天平、PH 试纸。

样本处理及要求:

1. **试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围**, 建议实验前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定, 根据预实验的结果, 结合本试剂盒的线性范围: 0.01-1.8mg/mL, 如果样品中待测物浓度过高或过低, 请对样本做适当的稀释或浓缩, 样本的稀释液为蒸馏水。

咨询电话: 400-0066-400

网址: www.jonln.com

2. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议做预实验验证其检测有效性。
3. **血清（浆）等液体样本：**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。
4. **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，10000 g，常温离心 10min，上清液待测。
5. **高蛋白含量组织样本：**称取约 0.1g 样本（水分充足的样本建议取 0.2g 左右），加 0.9mL 的蒸馏水研磨，粗提液全部转移到 EP 管中，加入 0.05mL 提取液 A1，混匀后加入 0.05mL 提取液 A2，混匀，室温静置 30min，10000 g 室温离心 10min，取澄清的液体检测。
6. **细菌/细胞样本：**收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照细菌/细胞数量 (10^4): 提取液 (mL) 为 500~1000: 1 的比例(建议按照每 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液)，超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 200w，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次），10000 g，离心 10min，取上清待测。

检测前准备工作：

1. 请提前取出试剂盒，平衡至室温。
2. **标准品溶液的配制：**临用前取一支加 1mL 蒸馏水，配置成 5mg/mL 标准品母液。取一新 EP 管加入 100 μ L 标准品母液，再加入 900 μ L 蒸馏水，即 0.5mg/mL 的标准品溶液。
3. **试剂一：**临用前取一瓶加入 270 μ L 试剂二，混匀后使用。

4. **试剂五**：临用前将一瓶试剂三全部加入至一瓶试剂五中混匀溶解待用，用不完的试剂 2-8℃可保存 7 天。
5. **工作液的配制**：临用前将试剂四和配好的试剂五 1:1 等体积混合，现用现配，用多少配多少。

操作步骤：

1. 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 510nm。
2. 样本测定（在 96 孔板中依次加入）：

试剂名称 (μL)	标准孔	空白孔	测定孔	对照孔
0.5mg/mL 标准品	10			
蒸馏水	30	40	20	30
样本			10	10
试剂一			10	
试剂二	30	30	30	30
混匀，室温（25℃）条件下孵育 20min				
工作液	180	180	180	180
混匀，37℃孵育 15min，于 510nm 处读取各孔 OD 值。				

注：本试剂盒 48T 只能测 23 个样，96T 测 47 个样。

实验结果结算：**1. 按样本质量计算公式：**

$$\text{乳糖含量(mg/g 质量)} = C_{\text{标}} \times V_{\text{样}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提}} \times 342.3 \div 180.16$$
$$\times N = C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \times 342.3 \div 180.16 \times N$$

2. 按细胞数量计算公式：

$$\text{乳糖含量(mg/10}^4 \text{ cell)} = C_{\text{标}} \times V_{\text{样}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} \div 500 \div V_{\text{提}} \times 342.3$$
$$\div 180.16 \times N = C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times 342.3 \div 180.16 \div 500 \times N$$

3. 按液体体积计算公式：

$$\text{乳糖含量(mg/mL)} = C_{\text{标}} \times V_{\text{样}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} \times 342.3 \div 180.16 \times N = C_{\text{标}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times 342.3 \div 180.16 \times N$$

注： $\Delta A_{\text{测定}}$ ：测定孔 OD 值-对照孔 OD 值 $\Delta A_{\text{标准}}$ ：标准品 OD 值-空白孔 OD 值 $C_{\text{标}}$ ：标准品浓度，0.5mg/mL $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.01mL $V_{\text{提}}$ ：加入提取液体积，1mL

342.3：乳糖分子量

180.16：葡萄糖分子量

 W ：样本鲜重，g N ：样本稀释倍数

500：细胞数量

参考样本数据:

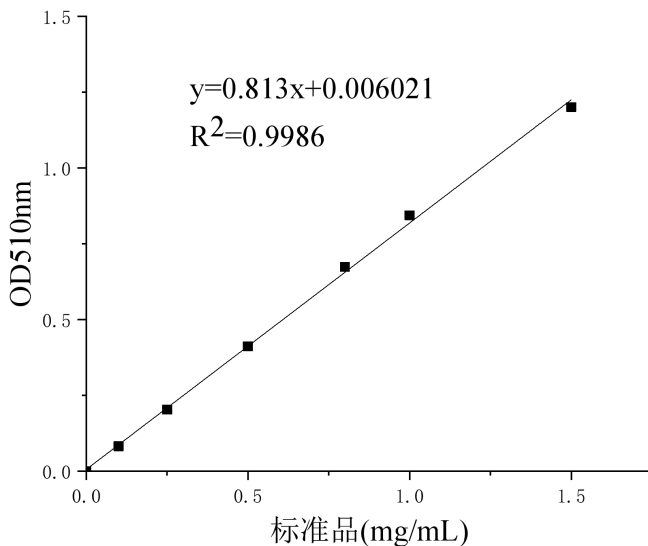
以下数据仅供参考:

样本类型	稀释倍数	参考值
酸奶 (10%匀浆)	10 倍稀释	22.377mg/g
人母乳 (10%匀浆)	10 倍稀释	32.78mg/g
牛奶 (10%匀浆)	10 倍稀释	35.656mg/g

以上均为高蛋白组织样本处理

参考曲线:

$y=0.813x+0.006021$, $R^2=0.9986$, x 是标准品浓度(mg/mL), y 是 ΔA .



注意: 标准曲线仅供参考, 用户不用制作。

咨询电话: 400-0066-400

网址: www.jonln.com

咨询电话：400-0066-400

传 真：021-55660885

电子邮箱：shjls@163.com

网 址：www.jonln.com