

產品名稱 & 產品編號

產品名稱: ONPG 【369-07-3】

產品編號: O003

產品性質

中文名稱: 邻硝基苯 β-D-半乳糖苷

β-半乳糖苷酶的底物

化學式: C₁₂H₁₅NO₈

分子量: 301.25

含量: 至少 99%

產品描述

ONPG是β-半乳糖苷酶的底物，形成邻硝基苯酚。邻硝基苯酚在碱性溶液中为黄色，可以在410-420 nm 波长处测定含量。在pH 10.2的条件下，摩尔消光系数为 2.13×10^4 。我们已经用该产品作为底物在410nm测定处的吸光率检测β-半乳糖苷酶的活性。在 Tris缓冲液，pH 7.6, 20℃的条件下，β-半乳糖苷酶(从大肠杆菌中获得)的 K_m 值为 9.5×10^{-4} M，在该底物条件下的最大反应速率为 134 μmoles/min/mg 酶。

制备说明

该产品可以在水溶液中配制成3 mg/ml的浓度，储液也可以是在磷酸缓冲液中配制。当用作β-半乳糖苷酶的底物时，可在100 mM 钠磷酸盐缓冲液，pH 7.3，配制成浓度约为20.5 mg/ml的溶液，可以轻微加热使其完全溶解。

使用方法

用于检测β-半乳糖苷酶(β-galactosidase)活性，是β-半乳糖苷酶的显色底物。经β-半乳糖苷酶催化后可产生黄色产物，在410—420nm波长可以检测吸光度。

利用b-galactosidase活性與否可以來決定微生物是否可以发酵乳糖，而b-galactosidase的活性则可利用o-nitrophenyl, b-D-galactopyranoside(ONPG)来测定，如果有b-galactosidase存在的微生物则会使无色ONPG水解成黄色的o-nitrophenyl(ONP)，因此水溶液会变成黄色。

其作法为：

将菌生长隔夜，移于含0.25ml的食盐水，再加数滴甲苯，振荡此悬浮液后，在37℃下静置5分钟，再加入0.25ml ONPG，然后在37℃下培养，每隔一段时间检测直到24小时，假如有b-galactosidase的存在，会有黄色产生。

儲存

置于-20℃，干燥避光处。