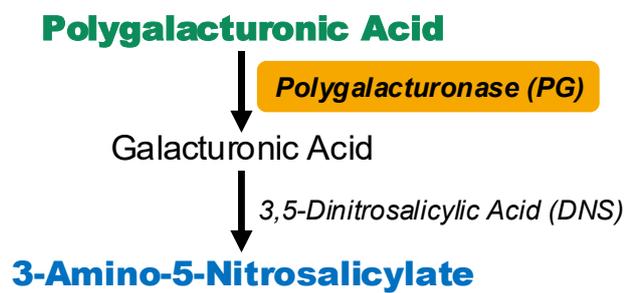




多聚半乳糖醛酸酶 (PG) 活性检测试剂盒
Polygalacturonase (PG) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



多聚半乳糖醛酸酶 (PG) 活性检测试剂盒

Polygalacturonase (PG) Activity Assay Kit

一、产品描述

多聚半乳糖醛酸酶 (PG) 是降解植物细胞壁果胶的主要酶, 可催化果胶分子中 α -(1,4)-聚半乳糖醛酸裂解, 通过降解果胶使细胞壁结构解体促使果实软化, 其活性与果实成熟、叶和花的脱落、病原物防御、细胞伸展发育以及木质化密切相关, 在植物抗病性和食品贮藏保鲜领域具有重要应用。

多聚半乳糖醛酸酶能够水解多聚半乳糖醛酸生成半乳糖醛酸, 进一步与 DNS 反应生成红棕色物质, 产物在 540 nm 处具有特征吸收峰, 通过吸光值变化即可表征多聚半乳糖醛酸酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液 A	液体 120 mL×1 瓶	4°C 保存	-
提取液 B	液体 60 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 10 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	粉剂×1 瓶	4°C 避光保存	使用前加入 10 mL 蒸馏水充分溶解 (若较难溶解可 60°C 水浴溶解)
试剂三	液体 20 mL×1 瓶	4°C 避光保存	-
标准品	粉剂×1 支 (10 mg 半乳糖醛酸)	4°C 避光保存	使用前加入 1 mL 蒸馏水充分溶解 (即为 10 mg/mL 半乳糖醛酸标准液)
标准稀释液的制备 (现配现用): 使用前将 10 mg/mL 半乳糖醛酸标准液使用蒸馏水稀释至 2.0、1.6、1.2、0.8、0.4、0.2 mg/mL 即为标准稀释液。			

序号	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度 (mg/mL)	10	10	10	10	0.8	0.4
标准液体积 (μ L)	100	80	60	40	200	200
蒸馏水体积 (μ L)	400	420	440	460	200	200
稀释后浓度 (mg/mL)	2.0	1.6	1.2	0.8	0.4	0.2

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 酶标仪、96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1.粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①组织：按组织质量（g）：提取液 A 体积（mL）为 1：（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液 A）处理样品，冰浴匀浆，4℃ 15000 g 离心 10 min，弃上清液，留沉淀；再加入 1 mL 提取液 A 充分混匀，室温静置 5 min，4℃ 15000 g 离心 10 min，弃上清液，留沉淀；加入 1 mL 提取液 B 充分混匀，4℃ 15000 g 离心 10 min，取上清液即为粗酶液，置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量（ 10^4 个）：提取液 B 体积（mL）为（500-1000）：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液 B）处理样品，冰浴超声破碎细菌或细胞（功率 300 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 3 min），4℃ 15000 g 离心 10 min，取上清液即为粗酶液，置于冰上待测。

③培养液等液体样本：直接检测或适当稀释后再进行检测。

2.测定步骤

①酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 540 nm。

②灭活酶液的制备：取适量粗酶液沸水浴处理 10 min（密封以防止水分散失），冷却至室温。

③在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μL)	对照管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
粗酶液	30	-	-	-
灭活酶液	-	30	-	-
标准稀释液	-	-	30	-
蒸馏水	-	-	-	30
试剂一	60	60	60	60
试剂二	60	60	60	60
充分混匀，40℃准确反应 2 h				
立即沸水浴处理 10 min，冷却至室温				
试剂三	150	150	150	150
充分混匀，沸水浴处理 5 min，冷却至室温				

注：沸水浴处理过程注意密封以防止水分散失。

吸光值测定：吸取 200 μL 反应液至 96 孔板中，测定 540 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白；计算 ΔA 测定=A 测定-A 对照， ΔA 标准=A 标准-A 空白。注：每个样本均需设一个对照管，各浓度标准管和空白管只需测定 1-2 次。

标准曲线的建立：以 2.0、1.6、1.2、0.8、0.4、0.2 mg/mL 为横坐标 (x)，以其对应的 ΔA 标准为纵坐标 (y)，绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 ΔA 测定代入公式中得到 x (mg/mL)。

3.多聚半乳糖醛酸酶 (PG) 活性计算

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每小时生成 1 mg 半乳糖醛酸定义为一个酶活力单位。

$$PG (U/mg \text{ prot}) = \frac{x \times V_{\text{样总}}}{C_{\text{pr}} \times V_{\text{样总}} \times T} = \frac{0.5 \times x}{C_{\text{pr}}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每小时生成 1 mg 半乳糖醛酸定义为一个酶活力单位。

$$PG (U/g) = \frac{x \times V_{\text{样总}}}{W \times T} = \frac{0.5 \times x}{W}$$

③按照细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每小时生成 1 mg 半乳糖醛酸定义为一个酶活力单位。

$$PG (U/10^4 \text{ cell}) = \frac{x \times V_{\text{样总}}}{\text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{0.5 \times x}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每小时生成 1 mg 半乳糖醛酸定义为一个酶活力单位。

$$PG (U/mL) = \frac{x \times V_{\text{样}}}{V_{\text{样}} \times T} = 0.5 \times x$$

注释： V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.03 mL；Cpr：粗酶液蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计，若 500 万细菌或细胞则代入 500 即可；T：酶促反应时间，2 h。

四、注意事项

- ①粗酶液应置于冰上待测，建议提取完成后当天完成检测；
- ②若测定吸光值超出标准吸光值线性范围：高于最高值建议将粗酶液使用蒸馏水适当稀释后再进行测定，低于最低值建议适当增加样本量或延长 40°C 准确反应时间后再进行测定，计算时相应修改；
- ③为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

