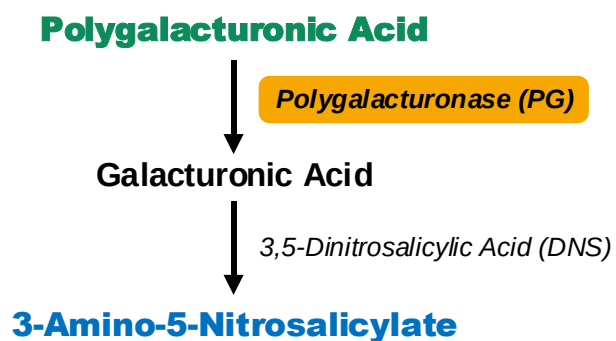




多聚半乳糖醛酸酶 (PG) 活性检测试剂盒
Polygalacturonase (PG) Activity Assay Kit



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	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：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 (μL)	100	80	60	40	200	200
蒸馏水体积 (μL)	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：可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿（光径 10 mm）/96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、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：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，4℃ 15000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

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）处理样品，冰浴超声破碎（功率 300 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 3 min），4℃ 15000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③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分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 540 nm，蒸馏水调零。

②灭活粗酶液的制备：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 (μ L)	对照管 (μ L)	标准管 (μ L)	空白管 (μ L)
粗酶液	30	-	-	-
灭活粗酶液	-	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 μ L 反应液至 96 孔板或微量玻璃比色皿中，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：空白管只需测定 1-2 次，每个样品均需设一个对照管。

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 测定带入公式中得到 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：40℃ pH 6.0 条件下，每 mg 组织蛋白每小时分解多聚半乳糖醛酸生成 1 mg 半乳糖醛酸定义为一个酶活力单位。

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

②按组织样本质量计算

单位定义：40℃ pH 6.0 条件下，每 g 组织每小时分解多聚半乳糖醛酸生成 1 mg 半乳糖醛酸定义为一个酶活力单位。

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

③按照细菌或细胞数量计算

单位定义：40℃ pH 6.0 条件下，每 10^4 个细菌或细胞每小时分解多聚半乳糖醛酸生成 1 mg 半乳糖醛酸定义为一个酶活力单位。

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

④按液体样本体积计算

单位定义：40℃ pH 6.0 条件下，每 mL 液体样本每小时分解多聚半乳糖醛酸生成 1 mg 半乳糖醛酸定义为一个酶活力单位。

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

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：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计；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线性吸光值范围：高于最高值建议将粗酶液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适当延长酶促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.

