



多聚半乳糖醛酸反式消除酶 (PGTE) 活性检测试剂盒

Polygalacturonic Acid Transeliminase (PGTE) Activity Assay Kit



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



多聚半乳糖醛酸反式消除酶 (PGTE) 活性检测试剂盒

Polygalacturonic Acid Transeliminase (PGTE) Activity Assay Kit

一、产品描述

多聚半乳糖醛酸反式消除酶可催化细胞壁中多聚半乳糖醛酸降解为单个 N-乙酰葡萄糖胺单元，作为重要的细胞壁降解酶，可以降解并破坏细菌的细胞壁结构，增强抗生素的渗透和杀菌效果，并在细菌感染治疗、生物膜清除、免疫调节、疫苗研发和生物材料降解等领域具有重要的作用和应用价值。

多聚半乳糖醛酸反式消除酶可催化多聚半乳糖醛酸反应生成不饱和醛酸，产物在 232 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化速率即可表征多聚半乳糖醛酸反式消除酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
提取液	液体 100 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 20 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	液体 3 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂三	粉剂×1 瓶	4°C 保存	使用前加入 2 mL 试剂一充分溶解 (60°C 加热并剧烈振荡或超声以促进溶解)

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿（光径 10 mm）/96 孔 UV 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°C 12000 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 (10⁴ 个)：提取液体积 (mL) 为 (500-1000): 1 的比例（建议 500 万个细菌或细胞加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率 20% 或 200 W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次），4°C 12000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③培养液等液体样本：直接测定或适当稀释后再进行测定，若样本浑浊需离心后取上清测定。

2. 测定步骤

- ① 紫外分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 232 nm，蒸馏水调零。
- ② 检测工作液 A 的制备（现用现配）：根据使用量按试剂一：试剂二：试剂三=16:4:1 体积比配制，充分混匀即为检测工作液 A，配制后 24 h 有效。
- ③ 检测工作液 B 的制备（现用现配）：根据使用量按试剂一：蒸馏水：试剂三=16:4:1 体积比配制，充分混匀即为检测工作液 B，配制后 24 h 有效。
- ④ 在 96 孔 UV 板或微量石英比色皿中依次加入下列试剂（避光条件下进行）：

试剂	测定组	对照组
	(μ L)	(μ L)
粗酶液	20	20
检测工作液 A	180	-
检测工作液 B	-	180
充分混匀，30°C避光反应 30 min		

吸光值测定：测定 232 nm 处吸光值，记为 A 测定和 A 对照；计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。注：每个样品均需设一个对照组。

3. 多聚半乳糖醛酸反式消除酶（PGTE）活性计算

3.1 使用 96 孔 UV 板测定的计算公式

- ① 按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟生成 1 nmol 不饱和醛酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{PGTE (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}} \times T} = \frac{144.93 \times \Delta A}{C_{\text{pr}}}$$

- ② 按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织样本每分钟生成 1 nmol 不饱和醛酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{PGTE (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{144.93 \times \Delta A}{W}$$

- ③ 按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每分钟生成 1 nmol 不饱和醛酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{PGTE (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{144.93 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟生成 1 nmol 不饱和醛酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{PGTE (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\varepsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times T} = 144.93 \times \Delta A$$

3.2 使用微量石英比色皿测定的计算公式

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟生成 1 nmol 不饱和醛酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{PGTE (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\varepsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}} \times T} = \frac{72.46 \times \Delta A}{C_{\text{pr}}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织样本每分钟生成 1 nmol 不饱和醛酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{PGTE (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\varepsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{72.46 \times \Delta A}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每分钟生成 1 nmol 不饱和醛酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{PGTE (U/}10^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\varepsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{72.46 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟生成 1 nmol 不饱和醛酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{PGTE (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\varepsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times T} = 72.46 \times \Delta A$$

注释：V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.02 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积， 2×10^{-4} L； ε ：不饱和醛酸摩尔消光系数， 4.6×10^3 L/mol/cm； d_1 ：96 孔 UV 板光径，0.5 cm； d_2 ：微量石英比色皿光径，1.0 cm；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：反应时间，30 min； 10^9 ：单位换算系数，1 mol/L= 10^9 nmol/L。

四、注意事项

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.

