

Polygalacturonase Activity Assay Kit

多聚半乳糖醛酸酶(PG)/果胶酶活性检测试剂盒 分光法

产品编号	产品名称	规格
BL1811A	多聚半乳糖醛酸酶(PG)/果胶酶活性检测试剂盒 分光法	48T

产品简介:

果胶酶是指分解果胶的多种酶，主要包括多聚半乳糖醛酸酶(PG)，果胶裂解酶(PL)，果胶甲酯酶(PME)和原果胶酶，贮藏过程中起作用的主要是 PG。所以该酶在食品贮藏保鲜和植物抗病性等领域具有较高的研究价值。

果胶在多聚半乳糖醛酸酶(PG)作用下，能水解产生带有具有还原性醛基的半乳糖醛酸。与 DNS 试剂反应生成红棕色物质，在 540nm 有特征吸收峰，测定 540nm 处吸光值变化可计算得多聚半乳糖醛酸酶活性。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	60mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	20mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	20mL×1 瓶	4°C保存	
试剂三	46mL×1 瓶	4°C保存	
标准品	粉末×1 支	4°C保存	若重新做标曲，则用到该试剂

使用方法:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

一、样本准备

1. 组织样本:

- 称取约 0.2g 组织（水分充足的样本可取 1g），加入 1mL 经预冷的 95%乙醇冰浴匀浆，4°C 放置 10min；
- 12000rpm，4°C离心 5min；
- 弃上清，留沉淀，向沉淀中加入经预冷的 80%乙醇混匀，4°C放置 10min；
- 12000rpm，4°C离心 5min；弃上清，留沉淀；
- 再向沉淀中加入 1mL 经预冷提取液，涡旋混匀，4°C放置 10min；
- 12000rpm，4°C离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例进行提取。

2. 细菌/细胞样本：

- 先收集细菌/真菌到离心管内，离心后弃上清；取 500 万细菌/细胞加入 1mL 提取液；
- 冰浴超声波破碎细菌/细胞（冰浴，功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；
- 12000rpm，4°C离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，按照每 0.5~1×10⁷ 个细菌/细胞加入 1mL 提取液进行提取。

3. 液体样品:

直接检测。若浑浊，离心后取上清检测。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。



二、样品测定

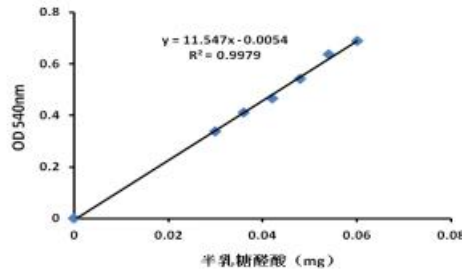
1. 可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 540nm，蒸馏水调零。
2. 在离心管中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
样本	60	60
试剂一	390	-
试剂二	-	390
40°C水浴 30min		
试剂三	450	450
沸水浴 (95-100°C) 5min，冰浴或淋浴冷却后，全部转移于 1mL 玻璃比色皿中，540nm 处测定吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ (每个测定管设一个对照管)。		

【注】：若 ΔA 在零附近徘徊，可增加样本上样量 V1 (如增加至 100μL，则试剂一或二相应减少)，或延长反应时间 T (如增至 1h)，则改变后的 V1 和 T 需代入公式重新计算。

三、结果计算

1. 标准曲线方程： $y = 11.547x - 0.0054$ ；x 为标准品质量，mg；y 为 ΔA 。



2. 按蛋白浓度计算：

酶活定义：在 40°C，每毫克蛋白每小时分解果胶酸产生 1mg 半乳糖醛酸为一个酶活力单位。

$$\text{PG 活性}(\text{mg/h/mg prot}) = [(\Delta A + 0.0054) \div 11.547] \div (V1 \times Cpr) \div T = 2.89 \times (\Delta A + 0.0054) \div Cpr$$

3. 按照样本质量计算：

酶活定义：在 40°C，每克样本每小时分解果胶酸产生 1mg 半乳糖醛酸为一个酶活力单位。

$$\text{PG 活性}(\text{mg/h/g 鲜重}) = [(\Delta A + 0.0054) \div 11.547] \div (V1 \div V \times W) \div T = 2.89 \times (\Delta A + 0.0054) \div W$$

4. 按细菌/细胞密度计算：

酶活定义：在 40°C，每 1 万个细菌或细胞每小时分解果胶酸产生 1mg 半乳糖醛酸为一个酶活力单位。

$$\text{PG 活性}(\text{mg/h/10}^4 \text{ cell}) = [(\Delta A + 0.0054) \div 11.547] \div (V1 \div V \times 500) \div T = 0.006 \times (\Delta A + 0.0054)$$

5. 按液体体积计算：

酶活定义：在 40°C，每毫升液体每小时分解果胶酸产生 1mg 半乳糖醛酸为一个酶活力单位 PG

$$\text{活性}(\text{mg/h/mL}) = [(\Delta A + 0.0054) \div 11.547] \div V1 \div T = 2.89 \times (\Delta A + 0.0054)$$

V---加入提取液体积，1mL

V1---反应中样本体积，0.06mL

T---反应时间，0.5h

W---样本鲜重，g

500---细菌/细胞总数，500 万

Cpr---样本蛋白浓度，mg/mL

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。



附：标准曲线制作过程：

1. 制备标准品母液（10mg/mL）：向标准品离心管里面加入 1mL 的蒸馏水（母液需在两天内用且-20°C保存）。
2. 把母液稀释成五个浓度梯度的标准品：0，0.5，0.6，0.7，0.8，1 mg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
3. 依据测定管的加样表操作，根据结果即可制作标准曲线。

注意事项：

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：

4°C保存六个月。

