

## Polygalacturonase Activity Assay Kit

### 多聚半乳糖醛酸酶(PG)/果胶酶活性检测试剂盒 微板法

产品编号	产品名称	规格
BL1811B	多聚半乳糖醛酸酶(PG)/果胶酶活性检测试剂盒 微板法	96T

#### 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	120mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	14mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	14mL×1 瓶	4°C保存	
试剂三	30mL×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 0.5~1×10<sup>7</sup> 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

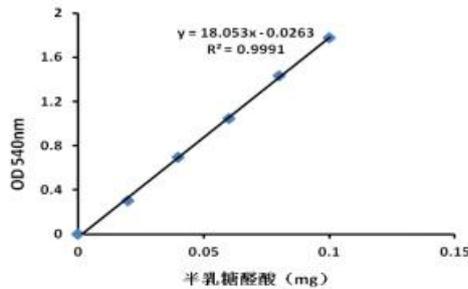
1. 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 540nm。
2. 在离心管中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
样本	20	20
试剂一	130	
试剂二		130
40°C水浴 30min		
试剂三	150	150
沸水浴 (95-100°C) 5min, 冰浴或淋浴冷却后, 取 200μL 于 96 孔板中, 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  $\Delta A$  在零附近徘徊，可增加样本上样量  $V_1$  (如增加至 50μL，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  $V_1$  和  $T$  需代入公式重新计算。

## 三、结果计算

1. 标准曲线方程： $y = 18.053x - 0.0263$ ； $x$  为标准品质量，mg； $y$  为  $\Delta A$ 。



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。

PG 活性(mg/h/mg prot)=[ $(\Delta A + 0.0263) \div 18.053$ ] $\div (V_1 \times C_{pr}) \div T = 5.54 \times (\Delta A + 0.0263) \div C_{pr}$

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 (U)。

PG 活性(mg/h/g 鲜重)=[ $(\Delta A + 0.0263) \div 18.053$ ] $\div (V_1 \div V \times W) \div T = 5.54 \times (\Delta A + 0.0263) \div W$

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 (U)。

PG 活性(mg/h/10<sup>4</sup> cell)=[ $(\Delta A + 0.0263) \div 18.053$ ] $\div (V_1 \div V \times 500) \div T = 0.011 \times (\Delta A + 0.0263)$

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 活性(mg/h/mL)=[ $(\Delta A + 0.0263) \div 18.053$ ] $\div V_1 \div T = 5.54 \times (\Delta A + 0.0263)$

V---加入提取液体积，1mL

V1---反应中样本体积，0.02mL

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：0，1，2，3，4，5.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。

