

多聚半乳糖醛酸酶（PG）试剂盒（微量法）

注意：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

产品货号：BA1088

产品规格：100管/48样

产品简介：

多聚半乳糖醛酸酶（Ploygalacturonase, PG）属果胶酶的一种，广泛存在于植物、细菌及真菌中。其催化多聚半乳糖醛酸分解，在果实软化、花粉授粉、种子发育成熟及器官脱落等方面具有重要作用，并且病原菌在感染宿主植物时，可分泌多聚半乳糖醛酸酶来降解宿主细胞壁，进而导致病程发展。

PG水解多聚半乳糖醛酸生成半乳糖醛酸，半乳糖醛酸与DNS试剂反应生成在540 nm有特征吸收峰的棕红色物质，测定540 nm处吸光值变化可计算得果胶酶活性。

产品内容：

提取液：液体60mL×1瓶，4℃保存。

试剂一：液体10mL×1瓶，4℃保存。若溶液中有晶体析出，37℃水浴溶解。

试剂二：粉剂×1瓶，4℃避光保存。临用前加入10 mL蒸馏水，60℃水浴助溶。

试剂三：液体20mL×1瓶，4℃避光保存。

标准品：粉剂×1支，10 mg半乳糖醛酸，4℃保存。临用前加入0.943 mL蒸馏水，配成50 μmol/mL的标准液。

需自备的仪器和用品：

天平、低温离心机、可见分光光度计、1 mL玻璃比色皿、恒温水浴锅。

操作步骤：

一、粗酶液提取：

组织：按照质量（g）：蒸馏水体积（mL）为1：5~10的比例（建议称取约0.1 g，加入1mL提取液）加入提取液，冰浴匀浆后于4℃，16000 g，离心10 min，取上清置于冰上待测。

细菌：先收集细菌到离心管内，离心后弃上清；按照细菌数量（10⁴个）：提取液体积（mL）为500~100：1的比例（建议500万个细菌加入1 mL提取液），冰浴超声波破碎细菌（功率20%或200W，超声3 s，间隔7 s，总时间5min）；然后4℃，16000 g，离心10 min 取上清置于冰上待测。

液体：直接检测或用提取液稀释后检测。

二、测定步骤：

- 1、分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至540nm，蒸馏水调零。
- 2、将50 μmol/mL标准液稀释为6、5、4、3、2、1.5 μmol/mL 的标准溶液备用。
- 3、操作表：（在1.5mL离心管中）

二、测定操作表

试剂名称（μL）	测定管	对照管	空白管	标准管
样本	25	25	-	-
煮沸样本	-	-	25	-
标准溶液	-	-	-	25



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

试剂一	50	50	50	50
试剂二	50	-	50	50
40℃ 水浴准确反应 2 h 后，沸水浴加热 10 min（盖紧，防止水分散失），取出后冷却至室温。				-
试剂二	-	50	-	-
试剂三	125	125	125	125
沸水浴加热5min（盖紧，防止水分散失），取出后冷却至室温。				
吸取200 μL反应液，测定540 nm 处的吸光度，记为A测定管、A对照管、A空白管、A标准管，计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。每个测定管需设一个对照管。				

三、PG 酶活计算：

1、标准曲线的绘制：

以各个标准溶液的浓度为 x 轴，其对应的 ΔA 标准为 y 轴，绘制标准曲线，得到标准方程 $y = kx + b$ ，将 ΔA 带入方程得到 x ($\mu\text{mol/mL}$)

2、PG酶活的计算：

(1) 按蛋白浓度计算

酶活定义：在40℃，pH 6.0的条件下，每毫克蛋白每小时分解多聚半乳糖醛酸产生1 μmol 的半乳糖醛酸定义为一个酶活力单位。

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

(2) 按样本质量计算

酶活定义：在40℃，pH 6.0的条件下，每克样品每小时分解多聚半乳糖醛酸产生1 μmol 的半乳糖醛酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{PG 酶活 (U / g 鲜重)} = x \times V_{\text{提取}} \div W \div T = 0.5x \div W$$

(3) 按照细菌数量计算

酶活定义：在40℃，pH 6.0的条件下，每 10^4 个细菌每小时分解多聚半乳糖醛酸产生1 μmol 的半乳糖醛酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{PG 酶活 (U / } 10^4 \text{ cell)} = x \times V_{\text{提取}} \div T \div \text{细菌数量 (万个)} = 0.5x \div \text{细菌数量 (万个)}$$

(4) 按液体体积计算

酶活定义：在40℃，pH 6.0的条件下，每mL样本每小时分解多聚半乳糖醛酸产生1 μmol 的半乳糖醛酸定义为一个酶活力单位。

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

V提取：加入提取液体积，1 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；V样：反应体系中样本体积，0.025 mL；T：酶促反应时间，2 h。

注意事项：

- 1、样本提取上清液置于冰上待测，且样本提取完成后建议当天提取当天内测完。
- 2、当A大于2时，建议将样品用提取液稀释后再进行测定，并在计算公式中乘以相应稀释倍数。
- 3、植物果实组织建议将样本稀释10倍或20倍后再测定。
- 4、若样本 ΔA 值偏小，建议延长酶促反应时间，并在计算公式中除以相应时间。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com