

## 多聚半乳糖醛酸酶（PG）试剂盒（可见分光光度法）

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：BA1087

产品规格：50管/24样

### 产品简介：

多聚半乳糖醛酸酶（EC3.2.1.15）是一种细胞壁结合蛋白，可以催化果胶分子中 $\alpha$ -(1,4)-聚半乳糖醛酸的裂解，参与果胶的降解，使细胞壁结构解体，导致果实软化，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有关，在植物抗病性和食品贮藏保鲜领域具有较高的研究价值。

多聚半乳糖醛酸酶水解果胶酸生成半乳糖醛酸，具有还原性醛基，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。

### 产品内容：

提取液：液体50mL×1瓶，4℃保存。

试剂一：液体20mL×1瓶，4℃保存。

试剂二：液体25mL×1瓶，4℃避光保存。

### 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、酶液提取

- 1、组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为1：5~10的比例（建议称取约0.1g组织，加入1mL提取液），进行冰浴匀浆。16000g 4℃离心10min，取上清，置冰上待测。
- 2、细菌、真菌：按照细胞数量（ $10^4$ 个）：提取液体积（mL）为500~1000：1的比例（建议500万细胞加入1mL提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率300w，超声3秒，间隔7秒，总时间3min）；然后16000g，4℃离心10min，取上清置于冰上待测。
- 3、培养液：直接检测。

#### 二、测定操作表

试剂名称（ $\mu$ L）	对照管	测定管
样本		100
煮沸样本	100	
试剂一	400	400
40℃水浴30min		
试剂二	500	500
沸水浴5min，冰浴或自来水冷却，蒸馏水调零，1mL玻璃比色皿测定540nm处吸光值A， $\Delta A=A$ 测定管-A对照管。		

#### 三、酶活性计算公式

标准曲线： $y = 0.1544x - 0.1537$ ， $R^2 = 0.9996$

- 1、按照蛋白浓度计算



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

酶活性定义：在40℃，pH6.0条件下，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。

$$\text{PG 活性 (mg/h/mg prot)} = (\Delta A + 0.1537) \div 0.1544 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T \\ = 129.53 \times (\Delta A + 0.1537) \div C_{\text{pr}}$$

#### 2、按照样本质量计算

酶活性定义：在40℃，pH6.0条件下，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。

$$\text{PG 活性 (mg/h/g)} = (\Delta A + 0.1537) \div 0.1544 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times W \div V_{\text{样总}}) \div T \\ = 129.53 \times (\Delta A + 0.1537) \div W$$

#### 3、按液体体积计算

酶活性定义：在40℃，pH6.0条件下，每毫升培养液每小时分解果胶酸产生1mg半乳糖醛酸为一个酶活力单位。

$$\text{PG 活性 (mg/h/mL)} = (\Delta A + 0.1537) \div 0.1544 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T \\ = 129.53 \times (\Delta A + 0.1537)$$

#### 4、按细胞数量计算

酶活性定义：在40℃，pH6.0条件下，每10<sup>4</sup>个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。

$$\text{PG 活性 (mg/h/104cell)} = (\Delta A + 0.1537) \div 0.1544 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{细胞数量} \div V_{\text{样总}}) \div T \\ = 129.53 \times (\Delta A + 0.1537) \div \text{细胞数量}$$

V反总：反应总体积，1mL；V样：反应中样本体积，0.1mL；V样总：加入提取液体积，1mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W，样本质量，g；T：反应时间，0.5h。

#### 注意事项：

- 1、测定之前请先做预实验，如果吸光值较高或较低，请用提取液做适当的稀释或者加大样本量，并在计算公式中乘以稀释倍数或者以实际加入的样本体积参与计算。
- 2、煮沸样本建议将样本在沸水中煮沸10分钟，以将酶彻底灭活。



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

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com