

## Ploygalacturonase Activity Assay kit

### 多聚半乳糖醛酸酶 (PG) /果胶酶试剂盒说明书

货号: G0701F | 方法: 可见分光法 | 规格: 48 样

#### 一、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。

#### 二、试剂盒组成和配制:

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

#### 三、所需仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm)、台式离心机、天平、可调式移液器、水浴锅、研钵、冰。

#### 四、多聚半乳糖醛酸酶 (PG) 活性检测:

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!

##### 1、样本制备:

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; 留上清, 弃沉淀。上清液置冰上待测。

② 细菌/培养细胞: 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 取约 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液, 超声波破碎细菌或细胞 (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, 可按照细菌或细胞数量 ( $10^4$  个): 提取液体积 (mL) 为 500: 1 的比例进行提取。

③ 液体样本: 直接检测。若浑浊, 离心后取上清检测。若是果蔬汁液样本, 按照液体: 纯乙醇=2:8 的比例 (如: 0.4mL 液体加 1.6mL 的纯乙醇混匀, 乙醇占比 80%) 混匀, 4°C放置 10min; 12000rpm, 4°C离心 5min; 弃上清, 留沉淀, 向沉淀中再次加入经预冷的 1mL 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; 留上清, 弃沉淀。上清液置冰上待测。

##### 2、上机检测:

① 分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 540nm, 蒸馏水调零。

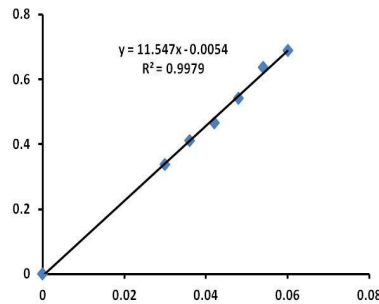
- ② 所有试剂可解冻至室温（25℃），或于 25℃条件下水浴 15min 左右。  
③ 在 EP 管中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管	对照管
样本	60	60
试剂一	390	
试剂二		390
40℃水浴 30min		
试剂三	450	450
沸水浴（95-100℃）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， $\Delta A = A$ 测定管 - A 对照管（每个测定管设一个对照管）。		

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

## 五、结果计算：

1、标准曲线： $y = 11.547x - 0.0054$ ：x 为标准品质量，mg；y 为  $\Delta A$ 。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

2、按照蛋白浓度计算：

定义：在 40℃，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。

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

3、按照样本质量计算：

定义：在 40℃，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。

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

4、按细菌/细胞密度计算：

定义：在 40℃，每 1 万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。

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

5、按液体体积计算：

定义：在 40℃，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。

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

$$\text{乙醇处理: } PG \text{ 活性}(\text{mg/h/mL}) = [(\Delta A + 0.0054) \div 11.547] \div (V1 \div V \times V_{液}) \div T = 2.89 \times (\Delta A + 0.0054) \div V_{液}$$

V---加入提取液体积，1mL； V1---反应中样本体积，0.06mL； V液---液体取样体积，mL；

W---样本质量，g； T---反应时间，0.5h； 500---细菌或细胞总数，万；

Cpr---样本蛋白浓度，mg/mL； 建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。