



## 多聚半乳糖醛酸酶活性检测试剂盒

### PG Assay Kit

微量法

产品编号：AK501M

产品规格：100T/48S

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
ES501	50mL×1 瓶	4℃保存
AK501-A	15mL×1 瓶	4℃保存
AK501-B	20mL×1 瓶	4℃避光保存
AK501-标准品	粉剂×1 支	4℃保存；临用前加入 0.943 mL 蒸馏水，配成 50umol/mL 的标准品

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介：

**意义：**多聚半乳糖醛酸酶（polygalacturonase, PG, 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。

**原理：**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。

自备用品：

可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板、天平、低温离心机、恒温水浴锅、冰和蒸馏水。

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 ES501），进行冰浴匀浆；10000g 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 ES501），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 10000g，4℃离心 10min，取上清置于冰上待测。
3. 细胞培养液等：直接检测。

测定步骤：

1. 分光光度计/酶标仪预热 30min，调节波长至 540nm，蒸馏水调零。
2. 将 50 umol/mL 标准品用蒸馏水稀释为 6、5、4、3、2、1.5 umol/mL 的标准品备用。
3. 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。
4. 操作表（在 EP 管中依次加入）：

试剂名称	对照管(ul)	测定管(ul)	空白管(ul)	标准管(ul)
样本		30		
煮沸样本	30			
蒸馏水			30	
标准品				30
AK501-A	120	120	120	120
40℃水浴 30min				
AK501-B	150	150	150	150
沸水浴 5min，冰浴或自来水冷却，取 200μL 于微量玻璃比色皿/96 孔板测定 540nm 处吸光值 A，记为 A				

测定管、A 对照管、A 空白管、A 标准管， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。

注：每个测定管设一个对照管，空白管和标准曲线只需测定 1-2 次。

#### 酶活性计算公式：

##### 1. 标准曲线的绘制：

以各个标准品的浓度为 x 轴，其对应的  $\Delta A_{\text{标准}}$  为 y 轴，绘制标准曲线，得到标准方程  $y = kx + b$ ，将  $\Delta A$  带入方程得到 x (umol/mL)。

##### 2. 酶活计算：

###### (1) 按照蛋白浓度计算

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 1umol 半乳糖醛酸为一个酶活力单位。

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

###### (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 1umol 半乳糖醛酸为一个酶活力单位。

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

###### (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 1umol 半乳糖醛酸为一个酶活力单位。

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

###### (4) 按细胞数量计算

酶活性定义：在 40℃，pH6.0 条件下，每  $10^4$  个细胞每小时分解果胶酸产生 1umol 半乳糖醛酸为一个酶活力单位。

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

注：V 样：反应中样本体积，0.03mL；V 提取：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。