

多聚半乳糖醛酸酶（PG）检测试剂盒（微量法）

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，并且病原菌在侵染宿主植物时，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540nm有特征吸收峰的棕红色物质，测定540nm处吸光值变化可计算得果胶酶活性。

注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品内容：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体60mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体10mL×1瓶	2-8℃
试剂二	粉剂×1瓶	2-8℃
试剂三	液体20mL×1瓶	2-8℃
标准品	粉剂×1支	2-8℃

溶液的配制：

1. 试剂一：若溶液中有晶体析出，37℃水浴溶解；
2. 试剂二：临用前加入10mL蒸馏水，60℃水浴助溶；
3. 标准品：10mg半乳糖醛酸。临用前加入0.943mL蒸馏水，配成50μmol/mL的标准液。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、低温台式离心机、水浴锅、微量玻璃比色皿/96孔板、可调式移液枪、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

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0.1g，加入1mL提取液）加入提取液，冰浴匀浆后于4℃，16000g，离心10min，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1mL提取液），冰浴超声波破碎细菌（功率200W，超声3s，间隔7s，总时间5min）；然后4℃，16000g，离心10min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50μmol/mL标准液稀释为6、5、4、3、2、1.5μmol/mL的标准溶液备用。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

3. 操作表: (在1.5mL离心管中)

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	空白管	标准管
样本	25	25	-	-
蒸馏水	-	-	25	-
标准溶液	-	-	-	25
试剂一	50	50	50	50
试剂二	50	-	50	50
40°C水浴准确反应2h后,沸水浴加热10min(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200μL反应液,测定540nm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) 按样本蛋白浓度计算

酶活定义:在40°C, 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°C, pH 6.0的条件下,每克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。

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

(3) 按照细菌数量计算

酶活定义:在40°C, pH 6.0的条件下,每10⁴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°C, 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,1mL; C_{pr}: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,0.025mL; T:酶促反应时间,2h。

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,建议将样本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

上海尚宝生物科技有限公司
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com