

多聚半乳糖醛酸酶（PG）活性检测试剂盒说明书

微量法

货号: BC2665

规格: 100T/48S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

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

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 10 mL 蒸馏水，60℃水浴助溶；
- 3、标准品：10mg 半乳糖醛酸。临用前加入 0.943 mL 蒸馏水，配成 50 μmol/mL 的标准品；

产品说明：

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。

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。

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）：提取液体积（mL）为1：5~10的比例（建议称取约0.1 g，加入1 mL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500~1000：1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200 W，超声3 s，间隔7 s，总时间5 min）；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30 min以上，调节波长至540 nm，蒸馏水调零。
2. 将50 μmol/mL 标准品用蒸馏水稀释为6、5、4、3、2、1.5 μmol/mL的标准品备用。
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	-
标准品	-	-	-	25
试剂一	50	50	50	50
试剂二	50	-	50	50
40°C 水浴准确反应2 h后,沸水浴加热10 min（缠封口膜,防止爆盖）,取出后冷却至室温。				-
试剂二	-	50	-	-
试剂三	125	125	125	125
沸水浴加热5 min（缠封口膜,防止爆盖），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：

以各个标准品的浓度为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（μmol/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，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。

实验实例：

- 1、取0.1g木槿花加入1mL提取液冰浴匀浆后于4℃，16000 g，离心10 min，取上清稀释2倍后按照测定步骤操作，用微量石英玻璃比色皿测得计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 1.6843 - 1.4916 = 0.1927$ ，带入标准曲线 $y = 0.2426x - 0.2979$ ，计算得 $x = 2.022 \mu\text{mol/mL}$ ，按样本质量计算：
PG酶活 (U/g 质量) = $0.5x \div W \times 2$ (稀释倍数) = 20.22 U/g 质量。

相关发表文献：

- [1] Shan C, Luo Y, Yang C, Gao X. The Effects of Poly-γ-Glutamic Acid on the Postharvest Physiology and Quality of Strawberry cv. Hongyan during Cold Storage. *Foods*. 2023 Aug 3;12(15):2944. doi: 10.3390/foods12152944. PMID: 37569213; PMCID: PMC10419068.
- [2] Ke J, Zhu W, Yuan Y, Du X, Xu A, Zhang D, Cao S, Chen W, Lin Y, Xie J, Cheng J, Fu Y, Jiang D, Yu X, Li B. Duality of immune recognition by tomato and virulence activity of the *Ralstonia solanacearum* exo-polygalacturonase PehC. *Plant Cell*. 2023 Jun 26;35(7):2552-2569. doi: 10.1093/plcell/koad098. PMID: 36977631; PMCID: PMC10291029.
- [3] Ma L, Liang C, Cui Y, Du H, Liu H, Zhu L, Yu Y, Lu C, Benjakul S, Brennan C, Brennan MA. Prediction of banana maturity based on the sweetness and color values of different segments during ripening. *Curr Res Food Sci*. 2022 Sep 6;5:1808-1817. doi: 10.1016/j.crfs.2022.08.024. PMID: 36254243; PMCID: PMC9568694.
- [4] Lin X, Huang S, Huber DJ, Zhang Q, Wan X, Peng J, Luo D, Dong X, Zhu S. Melatonin Treatment Affects Wax Composition and Maintains Storage Quality in 'Kongxin' Plum (*Prunus salicina* L. cv) during Postharvest. *Foods*. 2022 Dec 8;11(24):3972. doi: 10.3390/foods11243972. PMID: 36553714; PMCID: PMC9778571.
- [5] Lin L, Fan J, Li P, Liu D, Ren S, Lin K, Fang Y, Lin C, Wang Y, Wu J. The *Sclerotinia sclerotiorum*-inducible promoter pBnGH17D7 in *Brassica napus*: isolation, characterization, and application in host-induced gene silencing. *J Exp Bot*. 2022 Nov 2;73(19):6663-6677. doi: 10.1093/jxb/erac328. PMID: 35927220; PMCID: PMC9629790.

相关系列产品：

- BC2630/BC2635 果胶酶活性检测试剂盒
- BC3680/BC3685 原果胶含量检测试剂盒
- BC4150/BC4155 离子结合型果胶 (ISP) 含量检测试剂盒
- BC2640/BC2645 果胶裂解酶 (PL) 活性检测试剂盒

