多酚氧化酶（PPO）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1043BKM

保存：4℃避光保存 12 个月

规格：48T/24S 96T/48S

适用样本：血清（浆）、果汁、动植物组织、细胞、真菌、细菌

产品简介

多酚氧化酶（Polyphenol Oxidase, PPO, EC1.10.3.1）主要存在于动物、植物、微生物和培养细胞中，是一种含铜的氧化酶，能使一元酚和二元酚氧化产生醌，从而引起褐化，与果蔬加工、茶叶品质和组培等密切相关。本试剂盒提供了一种简单的检测方法，用于检测生物样本，如血浆、血清、果汁、动植物组织、细胞以及细菌样本中多酚氧化酶（PPO）的活性水平。在测定中，样本中的多酚氧化酶（PPO）能够催化邻苯二酚产生醌，后者在 400nm 有特征光吸收，测定 400nm 光吸收增加的速率，计算多酚氧化酶（PPO）活性。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃保存
试剂一	10mL	20mL	4℃保存
试剂二	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	4℃避光保存

自备耗材

酶标仪或可见分光光度计（能测 400nm 处的吸光度）及水浴锅
96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头
低温离心机、制冰机
去离子水
匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

提取液：即用型；4℃保存。
试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。
试剂二：临用前取一瓶，加入 3mL 去离子水充分溶解后待用；用不完的试剂 4℃保存一周。

样本制备

血清、血浆、果汁等液体样本：按照 0.1mL 液体加入 1mL 提取液的比例，充分混匀，8,000g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。
动植物组织样本：按照 0.1g 组织加入 1mL 的提取液的比例，冰浴匀浆，8,000g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。
真菌、细菌或细胞样本：收集 500 万个真菌、细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；加入 1mL 提取液，冰浴超声波破碎真菌、细菌或细胞 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；8,000g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。
注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。 如需测定蛋白浓度，推荐使用 BCA 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 400nm，可见分光光度计去离子水调零。
2. 样本测定（在 EP 管中依次加入下列试剂）：

试剂	对照管（μL）	测定管（μL）
煮沸样本	50	0
样本	0	50
试剂一	200	200
试剂二	50	50

37℃(哺乳动物)或 25℃（其它物种）中准确水浴 10min（酶促反应时间）后，95℃水浴 5min （终止酶促反应），冷却至室温，取上清液 200μL 加入 96 孔板或微量玻璃比色皿中，400nm 处检测测定孔和对照孔的吸光度，分别记为 $A_{测定}$，$A_{对照}$，计算 $\Delta A=A_{测定}-A_{对照}$。

注意：1. 每个样本均需要做对照管，可以在不同对照管中加入不同样品的提取液，然后 集中进行 5min 95℃水浴处理。

2. 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ΔA 小于 0.001 可适当加大样本量。如果ΔA 大于 1.0，样本可用提取液进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。

结果计算

A. 用 96 孔板测定的计算公式如下：

1. 按样本鲜重计算：

单位定义：每分钟每 g 组织在反应体系中吸光值变化 0.005 为一个酶活力单位。

$PPO（U/g\ 鲜重）=\Delta A\times V_{反总}\div（W\times V_{样}\div V_{样总}）\div 0.005\div T=120\times\Delta A\div W$

2. 按液体样本体积计算：

单位的定义：每分钟每 mL 液体在反应体系中吸光值变化 0.005 为一个酶活力单位。

$PPO（U/mL）=\Delta A\times V_{反总}\div（V_{液}\times V_{样}\div V_{样总}）\div 0.005\div T=120\times\Delta A\div V_{液}$

3. 按样本蛋白浓度计算：

单位定义：每分钟每 mg 组织蛋白在反应体系中吸光值变化 0.005 为一个酶活力单位。

$PPO（U/mg\ prot）=\Delta A\times V_{反总}\div（V_{样}\times Cpr）\div 0.005\div T=120\times\Delta A\div Cpr$

4. 按真菌、细菌或细胞密度计算：

单位定义：每分钟每 1 万个真菌、细菌或细胞在反应体系中吸光值变化 0.005 为一个酶活力单位。

$PPO（U/10^4\ Cells）=\Delta A\times V_{反总}\div（500\times V_{样}\div V_{样总}）\div 0.005\div T=0.24\times\Delta A$

B. 使用微量玻璃比色皿测定的计算公式

1. 按样本鲜重计算：

单位定义：每分钟每 g 组织在反应体系中吸光值变化 0.01 为一个酶活力单位。

$PPO（U/g\ 鲜重）=\Delta A\times V_{反总}\div（W\times V_{样}\div V_{样总}）\div 0.01\div T=60\times\Delta A\div W$

2. 按液体样本体积计算：

单位的定义：每分钟每 mL 液体在反应体系中吸光值变化 0.01 为一个酶活力单位。

$PPO（U/mL）=\Delta A\times V_{反总}\div（V_{液}\times V_{样}\div V_{样总}）\div 0.01\div T=60\times\Delta A\div V_{液}$

3. 按样本蛋白浓度计算：

单位定义：每分钟每 mg 组织蛋白在反应体系中吸光值变化 0.01 为一个酶活力单位。

$PPO（U/mg\ prot）=\Delta A\times V_{反总}\div（V_{样}\times Cpr）\div 0.01\div T=60\times\Delta A\div Cpr$

4. 按真菌、细菌或细胞密度计算：

单位定义：每分钟每 1 万个真菌、细菌或细胞在反应体系中吸光值变化 0.01 为一个酶活力单位。

$PPO（U/10^4\ Cells）=\Delta A\times V_{反总}\div（500\times V_{样}\div V_{样总}）\div 0.01\div T=0.12\times\Delta A$

$V_{反总}$：反应体系总体积，0.3mL；$V_{液}$：提取时加入血清（浆）或果汁体积，0.1mL；$V_{样}$：加入样本体积，0.05mL；$V_{样总}$：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，10min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；500：真菌、细菌或细胞总数，500 万。

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

PMK1036 超氧化物歧化酶（SOD）检测试剂盒（微量法）
PMK1038 过氧化物酶（POD）检测试剂盒（微量法）
PMK1041 黄嘌呤氧化酶（XO）检测试剂盒（微量法）
PMK1048 二胺氧化酶（DAO）检测试剂盒（微量法）
PMK1037 过氧化氢酶（CAT）检测试剂盒（微量法）

更多产品详情了解，请关注公众号：