

多酚氧化酶（PPO）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1043

保存：4℃避光保存 12 个月

规格：48T/96T

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 525nm 有特征光吸收，测定 525nm 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	2.5mL	5mL	4℃避光保存

自备耗材

酶标仪或可见分光光度计（能测 525nm 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；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂二：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

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，超声波破碎真菌、细菌或细胞（冰浴，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

产品说明书

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 525nm，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

3. 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，10000g，25℃离心 10min，取上清液 200 μL 加入 96 孔板或微量玻璃比色皿中，525nm 处检测测定孔和对照孔的吸光度，分别记为 $A_{\text{测定}}$ ， $A_{\text{对照}}$ ，计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。

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 0.5，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. 血清(浆)、果汁等液体样本 PPO 活性

单位的定义：每分钟每 mL 液体在每 mL 反应体系中 525nm 处吸光值变化 0.005 为一个酶活力单位。

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

2. 动植物组织、真菌、细菌或细胞 PPO 活性：

(1) 按样本蛋白浓度计算：单位定义：每分钟每 mg 组织蛋白在每 mL 反应体系中使 525 nm 处吸光值变化 0.005 为一个酶活力单位。

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

(2) 按样本鲜重计算：单位定义：每分钟每 g 组织在每 mL 反应体系中使 525 nm 处吸光值变化 0.005 为一个酶活力单位。

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

(3) 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、细菌或细胞在每 mL 反应体系中使 525 nm 处吸光值变化 0.005 为一个酶活力单位。

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

B. 使用微量玻璃比色皿测定的计算公式

1. 血清(浆)、果汁等液体样本 PPO 活性

单位的定义：每分钟每 mL 液体在每 mL 反应体系中 525 nm 处吸光值变化 0.01 为一个酶活力单位。

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

2. 组织、植物、真菌、细菌或细胞 PPO 活性：

(1) 按样本蛋白浓度计算：单位定义：每分钟每 mg 组织蛋白在每 mL 反应体系中使 525 nm 处吸光值变化 0.01 为一个酶活力单位。

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

(2) 按样本鲜重计算：单位定义：每分钟每 g 组织在每 mL 反应体系中使 525 nm 处吸光值变化 0.01 为一个酶活力单位。

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

(3) 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、细菌或细胞在每 mL 反应体系中使 525 nm 处吸光值变化 0.01 为一个酶活力单位。

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

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积，0.3mL； $V_{\text{液}}$ ：加入血清(浆)或果汁体积，0.1mL； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.05mL； $V_{\text{样总}}$ ：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。

产品说明书

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：

