

多酚氧化酶（PPO）活性检测试剂盒（可见分光光度法）

注意：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

产品货号：BA1085

产品规格：50管/24样

产品简介：

PPO（EC1.10.3.1）是一种广泛存在于植物体内的含铜的氧化酶，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。

PPO能够催化邻苯二酚产生邻苯二醌，后者在410nm有特征光吸收。

产品内容：

提取液：液体60mL×1瓶，4℃保存，用前混匀；

试剂一：液体40mL×1瓶，4℃保存；

试剂二：液体10mL×1瓶，4℃保存。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、1mL玻璃比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、粗酶液提取：

- 1、收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照每500万细菌或细胞加入1mL提取液，超声波破碎细菌或细胞（功率20%，超声3秒，间隔10秒，重复30次）；8000g 4℃离心10分钟，取上清，置冰上待测。
- 2、称取约0.1g组织，加入1mL提取液进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心10分钟，取上清，置冰上待测。

二、测定步骤：

- 1、分光光度计预热30min以上，调节波长至410nm，蒸馏水调零。
- 2、样本测定（在EP管中依次加入下列试剂）

试剂名称（ μ L）	测定管	对照管
试剂一	600	600
试剂二	150	150
样本	150	
煮沸的样本		150

37℃(哺乳动物)或25℃（其它物种）中准确水浴10min后，迅速放入沸水中加热10min

充分混匀，5000g，常温离心10min，收集上清，用蒸馏水调零，410nm处检测测定管和对照管吸光度，计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。

注意：每个测定管需要设置一个对照管，可以在不同对照管中加入不同样品的粗酶液，然后集中进行5 min沸水浴处理。

PPO 活性计算：

（1）按样本蛋白浓度计算：

单位的定义：每分钟每mg组织蛋白在每mL反应体系中使410nm处吸光值变化0.01定义为一个酶活力单位。

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



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

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719779

Q Q：807961520 731791866

邮箱：shsunbao@126.com

http://www.saint-bio.com

(2) 按样本鲜重计算:

单位的定义: 每分钟每g组织在每mL反应体系中使410nm处吸光值变化0.01定义为一个酶活力单位。

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

(3) 按细菌或细胞数量计算:

单位的定义: 每分钟每1万个细菌或细胞在每mL反应体系中使410nm处吸光值变化0.01定义为一个酶活力单位。

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

V反总: 反应体系总体积, 0.9mL; V样: 加入反应体系中样本体积, 0.15 mL; V样总: 加入提取液体积, 1 mL;

Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本鲜重, g; 500: 细菌或细胞数量, 500万; T: 反应时间, 10min。

注意事项:

不同样本的多酚氧化酶最佳的反应温度略有差别, 可在25-37°C之间进行调节。



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

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719779

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: shsunbao@126.com

<http://www.saint-bio.com>