

多酚氧化酶（PPO）活性检测试剂盒

产品货号：R22016

产品规格：50管/24样

产品内容：

提取液：液体 100ml×1 瓶，4℃保存，用前混匀即可；

试剂一：液体 20ml×1 瓶，4℃保存；

试剂二：液体 5ml×1 瓶，4℃保存。

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。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板、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、分光光度计或酶标仪预热 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 (ul)	测定管	对照管
试剂一	200	200
试剂二	50	50
样本	50	
煮沸的样本		50
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，取 200ul至微量玻璃比色皿或 96 孔板中，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。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

PPO 活性计算:**a. 用微量玻璃比色皿测定的计算公式如下**

(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。

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

(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。

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

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

c. (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 0.005 定义为一个酶活力单位。

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

(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 0.005 定义为一个酶活力单位。

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

(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 0.005 定义为一个酶活力单位。

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

V 反总: 反应体系总体积, 0.3ml; V 样: 加入反应体系中样本体积, 0.05 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℃之间进行调节。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com