

多酚氧化酶（PPO）活性检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1086

产品规格：100管/48样

产品说明：

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。

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。

产品内容：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体100mL×1瓶	4℃
试剂一	液体20mL×1瓶	4℃
试剂二	液体5mL×1瓶	4℃

溶液的配制：

1. 提取液：内含不溶物，使用前摇匀。

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/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）

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. 可见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（ μL ）	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200 μL 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本的粗酶液，然后集中进行5min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

三、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。

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

(2) 按样本质量计算:

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。

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

(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。 PPO (U/10⁴cell) = $\Delta A \div 0.01 \times V_{\text{反总}} \div (500 \div V_{\text{样总}} \times V_{\text{样}}) \div T = 0.12 \times \Delta A$

b. 用96孔板测定的计算公式如下

(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。

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

(2) 按样本质量计算:

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。

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

(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。 PPO (U/10⁴cell) = $\Delta A \div 0.005 \times V_{\text{反总}} \div (500 \div V_{\text{样总}} \times V_{\text{样}}) \div T = 0.24 \times \Delta A$

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, 0.05mL; V样总: 加入提取液体积, 1mL;

Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, 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

QQ: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com