



多酚氧化酶 (PPO) 活性检测试剂盒
Polyphenol Oxidase (PPO) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



多酚氧化酶 (PPO) 活性检测试剂盒

Polyphenol Oxidase (PPO) Activity Assay Kit

一、产品描述

多酚氧化酶 (PPO) 又称酪氨酸酶、儿茶酚酶、酚酶, 是一类广泛分布于动物、植物、微生物和培养细胞中的含铜质体金属酶, 能够催化多酚类物质氧化为醌, 进而引起植物叶片、果实等发生褐变, 其活性对于果蔬加工、保藏及茶叶初加工等过程具有重要作用。

多酚氧化酶能够催化邻苯二酚生成醌, 产物在 410 nm 处具有特征吸收峰, 通过吸光值变化即可表征多酚氧化酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
提取液	液体 60 mL×1 瓶	4°C保存	内含白色不溶组分, 混匀后使用即可
试剂一	液体 25 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂二	液体 6 mL×1 瓶	4°C避光保存	-

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 酶标仪、96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1. 粗酶液的制备 (可根据预实验结果适当调整样品量及比例)

①组织: 按组织质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 1: (5-10) 的比例 (建议称取 0.1 g 组织, 加入 1 mL 提取液) 处理样品, 冰浴匀浆, 4°C 8000 g 离心 10 min, 取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞: 离心收集细菌或细胞至离心管内, 按细菌或细胞数量 (10^4 个): 提取液体积 (mL) 为 (500-1000): 1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液) 处理样品, 冰浴超声破碎 (功率 200 W, 超声 3 s, 间隔 10 s, 重复 30 次), 4°C 8000 g 离心 10 min, 取上清置于冰上待测。

③血清 (浆)、培养液等液体样本: 按照液体样本 (mL): 提取液体积 (mL) 为 1: (5-10) 的比例 (建议吸取 100 μ L 液体样本加入 900 μ L 提取液) 处理样品, 充分混匀, 4°C 8000 g 离心 10 min, 取上清置于冰上待测。

2.测定步骤

①酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 410 nm。

②**灭活酶液的制备**：吸取适量粗酶液 95°C处理 5 min（密封以防止水分散失），冷却至室温，充分混匀即为灭活酶液。

③在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μL)	对照管 (μL)
试剂一	200	200
试剂二	50	50
粗酶液	50	-
灭活酶液	-	50

①37°C（哺乳动物）或 25°C（其它物种）准确反应 10 min；

②立即 95°C处理 10 min（密封以防止水分散失）；

③冷却至室温后，10000 g 常温离心 10 min，取上清液；

吸光值测定：吸取 200 μL 上清液至 96 孔板中，测定 410 nm 处吸光值，记为 A 测定和 A 对照，计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。注：每个样品均需设一个对照管。

3.多酚氧化酶（PPO）活力计算

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟使反应体系吸光值变化 0.005 定义为一个酶活力单位。

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

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟使反应体系吸光值变化 0.005 定义为一个酶活力单位。

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

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每分钟使反应体系吸光值变化 0.005 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PPO (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{0.005 \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{120 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟使反应体系吸光值变化 0.005 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PPO (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{0.005 \times V_{\text{液}} \times V_{\text{样}} \times T} = 1200 \times \Delta A$$

注释： V 反总：反应体系总体积，0.3 mL；V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.05 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 液：提取过程中加入液体样本的体积，0.1 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量，以万计；T：反应时间，10 min。

四、注意事项

- ①不同样本的多酚氧化酶最佳反应温度略有差别，反应温度可在 25-37°C 之间进行调整；
- ②若 A 测定大于 1.5 或 ΔA 大于 1.0，建议将粗酶液适当稀释后再进行测定；若 ΔA 小于 0.02，建议适当延长酶促反应时间或适当增加样本量后再进行测定，计算时相应修改；
- ③为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

