



多胺氧化酶（PAO）活性检测试剂盒
Polyamine Oxidase (PAO) Activity Assay Kit

Spermine/Spermidine

↓ **Polyamine Oxidases (PAO)**

H_2O_2 + Other Products

o-Dianisidine ↓ **Peroxidase (POD)**

Oxidized *o*-Dianisidine

Spermine Products: 1,3-Diaminopropane+1-(3-Aminopropyl)-4-Aminobutanal

Spermidine Products: 1,3-Diaminopropane+4-Aminobutanal

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



多胺氧化酶 (PAO) 活性检测试剂盒

Polyamine Oxidase (PAO) Activity Assay Kit

一、产品描述

多胺氧化酶 (PAO) 是催化生物体内多胺氧化的关键酶, 能够将多胺类物质如精胺、腐胺、亚精胺等氧化成胺类以及对应的酮类产物, 直接影响细胞的生长、分化和凋亡, 并且通过调节细胞内多胺水平和生成物的浓度, 在细胞信号转导、神经递质代谢、药物代谢和植物逆境胁迫等多种生理反应过程中起重要作用。

多胺氧化酶能够催化多胺氧化生成 H_2O_2 , 过氧化物酶进一步催化 H_2O_2 分解, 同时将邻联茴香胺氧化生成有色物质, 产物在 500 nm 具有特征吸收峰, 通过吸光值变化即可表征多胺氧化酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件
提取液	液体 60 mL×1 瓶	4°C保存
试剂一	液体 35 mL×1 瓶	4°C保存
试剂二	液体 3.5 mL×1 瓶	4°C保存
试剂三	液体 3.5 mL×1 瓶	4°C保存
试剂四	液体 3 mL×1 瓶	4°C保存

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿 (光径 10 mm)、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本量及比例)

①组织: 按照组织质量 (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 10000 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, 按照细菌或细胞数量 (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 7 s, 总时间 3 min), 4°C 10000 g 离心 10 min, 取上清置于冰上待测。

③培养液等液体样本: 直接检测或适当稀释后再进行检测。

2.测定步骤

①分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 500 nm，蒸馏水调零。

②检测工作液的制备(现用现配): 根据使用量按试剂一: 试剂二: 试剂三=10:1:1 的体积比配制, 充分混匀即为检测工作液, 使用前置于 37°C 预热 10 min 以上。

③在离心管中依次加入下列试剂:

试剂	测定组 (μL)	空白组 (μL)
检测工作液	700	700
试剂四	50	50
粗酶液	250	-
蒸馏水	-	250

吸光值测定: ①充分混匀并立即开始计时, 测定 30 s 时(总时间) 500 nm 处吸光值, 记为 A1 测定和 A1 空白; ②37°C 准确反应 1 h, 测定 1 h 30 s 时(总时间) 500 nm 处吸光值, 记为 A2 测定和 A2 空白; ③计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A2_{\text{测定}} - A1_{\text{测定}}$, $\Delta A_{\text{空白}} = A2_{\text{空白}} - A1_{\text{空白}}$, $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。注: 空白组只需测定 1-2 次; 若反应 1 h 后有沉淀产生, 4°C 10000 g 离心 5 min 后取上清测定即可。

3.多胺氧化酶 (PAO) 活性计算

①按组织蛋白浓度计算

单位定义: 每 mL 反应体系中, 每 mg 组织蛋白每分钟使 500 nm 处吸光值增加 0.001 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PAO (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times D}{C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}} \times T \times 0.001} = \frac{66.67 \times \Delta A \times D}{C_{\text{pr}}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义: 每 mL 反应体系中, 每 g 组织每分钟使 500 nm 处吸光值增加 0.001 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PAO (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}} \times D}{W \times V_{\text{样}} \times T \times 0.001} = \frac{66.67 \times \Delta A \times D}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义: 每 mL 反应体系中, 每 10^4 个细胞或细菌每分钟使 500 nm 处吸光值增加 0.001 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PAO (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{提}} \times D}{\text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T \times 0.001} = \frac{66.67 \times \Delta A \times D}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 反应体系中，每 mL 液体样本每分钟使 500 nm 处吸光值增加 0.001 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PAO (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times D}{V_{\text{样}} \times T \times 0.001} = 66.67 \times \Delta A \times D$$

注释： V 反总：反应体系总体积，1 mL；V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.25 mL；V 提：待测样本总体积，1 mL；W：样本质量，g；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；细胞或细菌数量：以万计；T：反应时间，60 min；D：稀释倍数。

四、注意事项

- ①准确在规定时间点完成吸光值测定，以确保实验结果的准确性和重复性；
- ②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.

