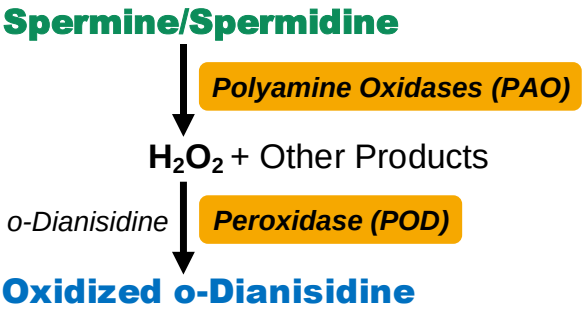
多胺氧化酶（PAO）活性检测试剂盒

Polyamine Oxidase (PAO) Activity Assay Kit



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 110 mL×1 瓶	4℃保存
试剂一	液体 15 mL×1 瓶	4℃保存
试剂二	液体 1.3 mL×1 支	4℃保存
试剂三	液体 1.3 mL×1 支	4℃保存
试剂四	液体 1.1 mL×1 支	4℃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/酶标仪、微量玻璃比色皿（光径 10 mm）/96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、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℃ 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℃ 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。

Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

2.测定步骤

①分光光度计或酶标仪预热 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℃预热 10 min 以上。

③在 96 孔板或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	140	140
试剂四	10	10
粗酶液	50	-
蒸馏水	-	50

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℃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 ΔA 测定=A2 测定-A1 测定，ΔA 空白=A2 空白-A1 空白，ΔA=ΔA 测定-ΔA 空白。注：空白管只需测定 1-2 次；若反应 1 h 后有沉淀产生，4℃ 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

3.1 使用 96 孔板测定的计算公式

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 0.0005 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PAO（U/mg prot）} = \frac{\Delta A \times V_{反总} \times D}{Cpr \times V_{样} \times T \times 0.0005} = \frac{133.33 \times \Delta A \times D}{Cpr}$$

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 0.0005 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PAO（U/g）} = \frac{\Delta A \times V_{反总} \times V_{提} \times D}{W \times V_{样} \times T \times 0.0005} = \frac{133.33 \times \Delta A \times D}{W}$$

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

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 0.0005 定义为一个酶活力单位。

$$PAO（U/10^4 cell）= \frac{\Delta A \times V_{反总} \times V_{提} \times D}{细菌或细胞数量 \times V_{样} \times T \times 0.0005} = \frac{133.33 \times \Delta A \times D}{细菌或细胞数量}$$

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 0.0005 定义为一个酶活力单位。

$$PAO（U/mL）= \frac{\Delta A \times V_{反总} \times D}{V_{样} \times T \times 0.0005} = 133.33 \times \Delta A \times D$$

注释：$V_{反总}$：反应体系总体积，0.2 mL；$V_{样}$：反应体系中加入粗酶液的体积，0.05 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。

3.2 使用微量玻璃比色皿测定的计算公式

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。

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

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。

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

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。

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

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

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。

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

注释：V 反总：反应体系总体积，0.2 mL；V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.05 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；若使用酶标仪应使用多道移液器且分批进行检测，以确保组间反应时间一致；

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.

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

Notes:

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

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.