上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话：021-61312973　传真：021-55068248
网址：www.shyuanye.com
邮箱：shyysw@sina.com

多酚氧化酶(PPO)活性检测试剂盒(微量法)

货号： R41783

规格： 100T/48S

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
提取液ES09	120ml×1	2-8℃保存，用前混匀；
R41783-A	20ml×1	2-8℃保存
R41783-B	5ml×1	2-8℃避光保存

简介

意义：多酚氧化酶 (Polyphenol Oxidase, PPO) (EC1.10.3.1) 主要存在于动物、植物、微生物和培养细胞中，是一种含铜的氧化酶，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。

原理：PPO 能够催化邻苯二酚产生醌，后者在 410nm 有特征光吸收。

自备用品：

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。

样品处理：

1. 细菌或培养细胞：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照细菌或细胞数量（10^4 个）：提取液 ES09 体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液 ES09），超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；8000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

2. 组织样品：按照组织质量（g）：提取液 ES09 体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液 ES09），进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

3. 血清（浆）或果汁样本的处理：

按照血清（浆）或果汁体积（mL）：提取液 ES09 体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议取 0.1mL 血清（浆）或果汁加入 1mL 提取液），进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

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 管中按照下表操作：

试剂名称	测定管(ul)	对照管(ul)
R41783-A	200	200
R41783-B	50	50
待测样本	50	
煮沸的待测样本		50
37℃(哺乳动物)或25℃(其它物种)中准确水浴10min后，95℃水浴5min,冷却至室温，10000g,常温离心10min,收集上清，取200μL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△A=A测定-A对照。		

注意：每个测定管需要设一个对照管。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 5min 95℃水浴处理。

PPO 活性计算：

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

1. 血清（浆）或果汁 PPO 活性

单位的定义：每分钟每 mL 血清（浆）或果汁在每 mL 反应体系中使 410nm 处吸光值变化 0.01 为

一个酶活力单位。

PPO (U/mL) =ΔA×V 反总÷(V 液× V 样÷V 样总)÷0.01÷T = 60×ΔA÷V 液

2. 组织、细菌或细胞 PPO 活性

（1）按样本蛋白浓度计算：

单位定义：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 为一个酶活力单位。

PPO (U/mg prot) =ΔA×V 反总÷(V 样×Cpr)÷0.01÷T = 60×ΔA÷Cpr

（2）按样本鲜重计算：

单位定义：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 为一个酶活力单位。

PPO (U/g 鲜重) = ΔA×V 反总÷(W× V 样÷V 样总)÷0.01÷T = 60×ΔA÷W

（3）按细菌或细胞密度计算：

单位定义：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 为一个酶活力单位。

PPO (U/10^4 cell) = ΔA×V 反总÷(500×V 样÷V 样总)÷0.01÷T = 0.12×ΔA

注： V 反总：反应体系总体积，0.3mL；V 液：加入血清（浆）或果汁体积，0.1mL；V 样：加入样本体积，0.05mL；V 样总：加入提取液体积，1 mL；T：反应时间，10 min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；500：细胞或细菌总数，500 万。

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

1. 血清（浆）或果汁 PPO 活性

单位的定义：每分钟每 mL 血清（浆）或果汁在每 mL 反应体系中使 410nm 处吸光值变化 0.005为一个酶活力单位。

PPO (U/mL) = ΔA×V 反总÷(V 液× V 样÷V 样总)÷0.005÷T = 120×ΔA÷V 液

2. 组织、细菌或细胞 PPO 活性

（1）按样本蛋白浓度计算：

单位定义：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 为一个酶活力单位。

PPO (U/mg prot) = ΔA×V 反总÷(V 样×Cpr)÷0.005÷T = 120×ΔA÷Cpr

（2）按样本鲜重计算：

单位定义：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 为一个酶活力单位。

PPO (U/g 鲜重) = ΔA×V 反总÷(W× V 样÷V 样总)÷0.005÷T = 120×ΔA÷W

（3）按细菌或细胞密度计算：

单位定义：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 为一个酶活力单位。

PPO (U/10^4 cell) = ΔA×V 反总÷(500×V 样÷V 样总)÷0.005÷T = 0.24×ΔA

注： V 反总：反应体系总体积，0.3mL；V 液：加入血清（浆）或果汁体积，0.1mL；V 样：加入样本体积，0.05mL；V 样总：加入提取液体积，1 mL；T：反应时间，10 min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量(g)；500：细胞或细菌总数，500 万。