上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co.， Ltd
电话：400-666-5481　传真：021-55068248
网址：www.shyuanye.com
邮箱：3008007435@qq.com

多胺氧化酶(PAO)试剂盒

微板法

货号：R45150-96S

产品简介：

多胺氧化酶(PAO,EC 1.5.3.3) 广泛存在于动物、植物和微生物中。催化多胺氧化为醛，其活性与核酸和蛋白合成密切相关。也与植物逆境生理有一定关系。

PAO 催化多胺产生醛和过氧化氢，产物过氧化氢与4-氨基氨替吡啉等反应产生一种有色物质，其在510nm 处有最大吸收峰。通过检测510nm 处吸光值的变化量得出PAO 酶活性大小。

试剂盒组成和配置：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体100mL×1瓶	4℃保存	
试剂一	液体3mL×1瓶	4℃保存	
试剂二	液体13mL×1瓶	4℃保存	
试剂三	粉剂mg×1瓶	4℃保存	用前甩几下使试剂落入底部， 再加3mL蒸馏水溶解备用。

所需的仪器和用品：

酶标仪、96孔板、可调式移液器、天平、低温离心机、蒸馏水。

多胺氧化酶 (PAO) 活性测定：

建议正式实验前选取2个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验 样本和试剂浪费!

1、 样本制备：

①组织样本：

称取约0.1g 组织(水分充足的样本可取0.5g)，加入1mL 提取液，进行冰浴匀浆。4℃ ×12000rpm 离心10min，取上清，置冰上待测。

【注】:若增加样本量，可按照组织质量 (g): 提取液体积(mL)为1:5~10的比例进行提取。

②细菌/细胞样本：

先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取约500万细菌或细胞加入1mL提取液，超声波破碎细菌或细胞(冰浴，功率200W, 超声3s, 间隔10s, 重复30次); 12000rpm 4℃离心 10min, 取上清，置冰上待测。

【注】:若增加样本量，可按照细菌/细胞数量(10^4):提取液 (mL) 为500~1000:1的比例进行提取。

③液体样本：直接检测；若浑浊，离心后取上清检测。

2、 上机检测：

①酶标仪预热30min, 调节波长至510nm。

②所有试剂解冻至室温(25℃),在96孔板中依次加入：

试剂名称(μL)	测定管
样本	20
试剂一	30
试剂二	130
试剂三	20
混匀，30℃下，立即在510nm处读取吸光值A1,30min 后读取A2,△A=A2-A1。	

【注】 若△A 差值较小，则需增加样本量V1 (如增至40μL, 则试剂二相应减少),或延长反应时间T (如增加至1h或更长),则改变后的加样体积V1 和反应时间T 需加入计算公式重新计算。

结果计算：

1、按样本蛋白浓度计算：

酶活定义：每毫克组织蛋白每分钟在反应体系中使510nm 处吸光值变化0.01为一个酶活单位。

PAO(△ OD_{510}/min/mg prot)=ΔA÷(V1×Cpr)÷0.01÷T=166.7×ΔA÷Cpr

2、按样本质量计算：

酶活定义：每克组织每分钟在反应体系中使510nm 处吸光值变化0.01为一个酶活单位。

PAO 活性 (△OD_{510}/min/g 鲜重)=ΔA÷(W×V1÷V)÷0.01÷T=166.7×ΔA÷W

3、按细胞数量计算：

酶活定义：每10^4个细胞每分钟在反应体系中使510nm 处吸光值变化0.01为一个酶活单位。

PAO 活性 (△OD_{510}/min/10^4cell)=ΔA÷(500×V1÷V)÷0.01÷T=0.34×ΔA

4、 按液体体积计算

酶活定义：每毫升液体每分钟在反应体系中使510nm 处吸光值变化0.01为一个酶活单位。

PAO 活性(△OD_{510}/min/mL)=ΔA÷V1÷0.01÷T=166.7×ΔA

V---加入提取液体积，1mL;

V1--- 反应中样本体积，0.02mL;

W---样本质量，g;

X-T---反应时间，30min

Cpr--- 样本蛋白浓度， mg/mL; 建议使用本公司的BCA 蛋白含量检测试剂盒。