



酚氧化酶 (PO) 活性测定试剂盒

可见分光光度法

货号: R43839-48S

产品简介:

酚氧化酶(PO,EC 1.14.18.1), 也叫酪氨酸酶, 是一种含有铜离子结合位点的氧化酶。在昆虫中多称为酚氧化酶。作为一类重要的免疫蛋白, 在昆虫免疫防御、表皮鞣化、黑化和伤口愈合等过程中发挥重要作用。

酚氧化酶(PO) 能够催化L-多巴产生醌, 后者在490nm 有特征光吸收, 通过检测490nm 吸收波长的变化速率即可得出PO 酶活性大小。

试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体60mL×1瓶	4℃保存	
试剂一	液体30mL×1瓶	4℃保存	
试剂二	粉体mg×2瓶	4℃保存	用前取一瓶甩几下使粉体落入底部, 再加11mL的试剂一溶解 (可超声溶解), 溶解后的试剂4℃保存且一个月内用完。

需自备的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿(光径1cm)、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水。

酚氧化酶 (PO) 的测定:

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, 加入1mL 提取液, 进行冰浴匀浆, 4℃×12000rpm, 离心 15min, 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液体样本: 直接检测。若浑浊, 离心后取上清检测。

③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。

2、上机检测

①可见分光光度计预热30min以上, 调节波长至490nm, 蒸馏水调零。

②在1mL玻璃比色皿中依次加入:

试剂名称(μL)	测定管
样本	350
试剂二	350
混匀, 立即在490nm处读取A1值, 35℃ 孵育30min 后再读取A2值, $\Delta A = A2 - A1$ 。	

【注】:若 ΔA 值在零附近, 可增加样本取样质量W (如增至0.2g), 或增加样本上样体积V1 (如增至500μL, 试剂二不变), 或延长35℃孵育时间T (如增至60min 读取A2), 则改变后的W 和V1 和T需代入公式重新计算。

结果计算:

1、按样本鲜重计算:

单位定义: 每分钟每克组织在反应体系中使490nm 处吸光值变化0.001为一个酶活单位(U)。

$$PO(\Delta OD_{490}/\text{min/g 鲜重}) = \Delta A \div (W \times V1 \div V) \div 0.001 \div T = 95.2 \times \Delta A \div W$$



2、按样本蛋白浓度计算:

单位定义: 每分钟每毫克组织蛋白在反应体系中使490nm 处吸光值变化0.001为一个酶活单位(U)。

$$PO(\Delta OD_{490}/\text{min}/\text{mg prot}) = \Delta A \div (V1 \times Cpr) \div 0.001 - T = 95.2 \times \Delta A \div Cpr$$

3、按照液体体积计算:

单位定义: 每分钟每毫升液体在反应体系中使490nm 处吸光值变化0.001为一个酶活单位(U)。

$$PO(\Delta OD_{490}/\text{min}/\text{mL}) = \Delta A \div V1 \div 0.001 \div T = 95.2 \times \Delta A$$

4、按细胞数量计算:

单位定义: 每分钟每 10^4 个细胞在反应体系中使490 nm 处吸光值变化0.001为一个酶活单位(U)。

$$PO(\Delta OD_{490}/\text{min}/\text{mL}) = \Delta A \div (500 \times V1 \div V) \div 0.001 \div T = 95.2 \times \Delta A \div 500$$

V--- 加入提取液体积, 1 mL;

V1--- 加入样本体积, 0.35mL;

T-- 反应时间, 30min;

W---样本质量, g;

500---细胞数量, 万;

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