



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

PYOD 检测方法 (Pyruvat Oxidase)

1.原理



可以通过 565nm 的光吸收进行检测。

2.试剂:

R1:

1M KH₂PO₄-NaOH buffer pH 6.7, 0.20ml

10mM Thiamine pyrophosphate, 0.02ml

1mM FAD Solution, 0.01ml

150U/ml POD, 0.05ml

15mM 4-AA, 0.10ml

纯水, 0.22ml

R2:

0.1%(V/V) TOOS Solution, 0.20ml

0.1M MgCl₂ Solution, 0.10ml

S:

1M Sodium pyruvate (丙酮酸钠)

H:

工作液: R1: R2: S=6: 3: 1

G:

酶稀释液: 10mM KH₂PO₄-NaOH buffer pH 7.0, 含 10Uμ FAD



3.操作规程:

3.1 仪器参数设定

若仪器中无已保存参数,按以下参数设定。若已有相关参数,调取后确认。

检测方法:动力学扫描

测量波长: 565nm 测量时间: 180s

延迟时间: 60s 积分时间: 120s

系数/因子: 1.875 测量温度: $37\pm0.5^{\circ}\text{C}$

3.2 样品准备

若待测样品为固体,可以按 10mg 样品/1000ul 超纯水比例溶解。溶解后于室温放置 30min。

3.3 检测方法

3.3.1 在石英比色皿中加入 0.6ml 试剂 H, 温浴 2min。

3.3.2 加入 20ul 样品, 温和混匀后开始测定。

3.3.3 测定结束后, 记录相应数值: 起始读数、 $\Delta A/\text{min test}$ 、活性值 (U/ml)。

3.3.4 活性值 (U/ml) 范围为 0.05-0.15U/ml, 若超出范围, 待测样品需经试剂 G 稀释后再次进行检测。

3.3.5 测定样品前需检测空白反应值, 即其他操作不变, 用 20ul G 代替样品加入比色皿后进行反应 测定 $\Delta A/\text{min blank}$ 。

3.3.6 计算公式 活性(U/ml) = $(\Delta A/\text{min test} - \Delta A/\text{min blank}) \times 1.875 \times \text{df}$ (稀释倍数)