多酚氧化酶(PPO)检测试剂盒(邻苯二酚比色法)

产品简介:

多酚氧化酶(polyphenol oxidase，PPO)是自然界中分布极广的一种金属蛋白酶，普遍存在于植物、真菌、昆虫的质体中，甚至在土壤中腐烂的植物残渣上都可以检测到多酚氧化酶的活性，多酚氧化酶是一种蛋白体，在茶树生命活动和茶叶加工过程中参与一系列由酶促活动而引起的化学变化，故又被称为生物催化剂，该酶属于细胞木质素合成途径中间的关键酶，研究该酶可以探讨多种生物细胞发育过程中木质素沉积的代谢机理，为减少水果石细胞含量提高其品质提供依据。

多酚氧化酶(PPO)检测试剂盒(邻苯二酚比色法)检测原理是以邻苯二酚作为底物，在酶促反应的最适条件下采用每隔一定时间测定产物生成量的方法，于分光光度计420nm处检测吸光度，以吸光度变化所需酶量进行计算，主要用于植物组织的裂解液或匀浆液、血清等样品中内源性的多酚氧化酶活性，尤其适用于检测水果中多酚氧化酶活性。该试剂盒仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

编号 / 名称	GCTE0429 60T	Storage
试剂(A): PPO Lysis Buffer	2×250ml	4℃ 避光
试剂(B): PPO Assay Buffer	50ml	4℃ 避光
使用说明书	1 份	

自备材料:

1、 蒸馏水

2、 研钵或匀浆器、离心管、水浴锅、低温离心机、比色杯、分光光度计

操作步骤(仅供参考):

1、 准备样品:

①植物样品：取 3g 植物组织或水果中层果肉加入 6ml 预冷的 PPO Lysis Buffer 研磨或匀浆，4℃ 10000g 离心 15~20min，留取上清液，-20℃冻存，用于多酚氧化酶的检测。

②血浆、血清和尿液样品：血浆、血清按照常规方法制备后可以直接用于该试剂盒的测定，-20℃冻存，用于多酚氧化酶的检测。

③细胞或组织样品：取恰当的细胞或组织裂解液，如有必要用 PPO Lysis Buffer 进行适当匀浆，4℃ 10000g 离心 15~20min，取上清液，-20℃冻存，用于多酚氧化酶的检测。

④高活性样品：如果样品中含有较高活性的多酚氧化酶，可以使用 PPO Lysis Buffer 进行恰当的稀释。

2、 PPO 加样：按照下表设置对照管、测定管，注意：对照管、测定管中样品为同一待测样品，但对照管中为提前加热煮沸 5min 的样品；溶液应按照顺序依次加入，并注意避免产生气泡，如果样品中的 PPO 活性过高，可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定，样品的检测最好能设置 2 平行管，求平均值。

加入物(ml)	对照管	测定管
待测样品	0.4(提前煮沸 5min)	0.4
PPO Lysis Buffer	0.8	0.8
PPO Assay Buffer	0.8	0.8

3、 PPO 检测：以对照管为对照(调零)，比色杯光径 1.0cm，立即分光光度计测定 420nm 处测定管的吸光度(记为 $A_{测定0}$)；10min 后立即测定 420nm 处测定管的吸光度(记为 $A_{测定1}$)。

注意：该反应系统是利用速率变化，求得相应 OD 的变化，因此加入 PPO Assay buffer 立即计时很重要，每次检测指标不宜过多，否则有可能由于操作时间有差异进而导致结果偏差。

计算：

PPO 活性单位的定义：在该实验条件下，每 1min 吸光度变化 0.01 所需酶量为一个活性单位。

组织样品 $PPO(U)=\{(A_{测定1}-A_{测定0})\times V_T\}/(W\times V_S\times 0.01\times t)$

液体样品 $PPO(U)=(A_{测定1}-A_{测定0})/(0.01\times t)$

式中：$A_{测定1}$=反应 1min 时测定管的吸光度

$A_{测定0}$=加入 PPO Assay buffer 立即测定的测定管吸光度

W=组织样本的重量(g)

V_T=提取酶液的总体积(ml)

V_S=测定时所用酶液体积(ml)

t=反应时间(min)=1

注意事项：

1、待测样品中不能含有酶抑制剂，同时需避免反复冻融。

2、提取 PPO 酶液时，注意低温操作，防止酶活性，4℃保存 2~3 天，亦可-20℃保存。

3、以煮沸的酶液为对照时，酶要充分失活。

4、如果没有分光光度计，也可以使用普通的酶标仪测定，每次检测指标不宜过多，否则操作时间不一，有可能导致样本间的差异。

5、试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

6、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：6 个月有效；低温运输，4℃保存。

相关产品：

产品编号	产品名称
GCCC0007	磷酸缓冲盐溶液(10×PBS,无钙镁)
GCDC0032	Masson 三色染色液
GCDF0135	组织细胞固定液(4% PFA)
GCDP0013	GUS 染色液(即用型)
GCNR0001	DEPC 处理水(0.1%)
GCPS0013	RIPA 裂解液(强)
GCTC1167	尿素(Urea)检测试剂盒(脲酶波氏比色法)

