

Phenoloxidase Activity Assay Kit

酚氧化酶(PO)活性检测试剂盒 微板法

产品编号	产品名称	规格
BL1761B	酚氧化酶(PO)活性检测试剂盒 微板法	96T

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。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	100mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	15mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	粉末×4 瓶	4℃保存	使用前取一瓶甩几下使粉末落入底部, 再加 3mL 的试剂一溶解 (可超声溶解), 溶解后的试剂仍 4℃保存且一个月内用完。

使用方法:

一、样本准备

1. 组织样本:

(a) 称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆;

(b) 12000rpm, 4℃离心 15min, 取上清, 置冰上待测。

【注】根据研究需求, 可按组织质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 1:10 的比例进行提取。

2. 细胞/细菌样本:

(a) 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清;

(b) 取 5×10^6 个细菌或细胞加入 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);

(c) 12000rpm 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

3. 液体样本:

澄清的液体样本直接检测, 若浑浊则离心后再取上清液检测。

二、样品测定

1. 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 490nm。

2. 在 96 孔板中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管
样本	100
试剂二	100
混匀, 立即在 490nm 处读取 A1 值, 35℃ 孵育 30min 后再读取 A2 值, $\Delta A = A2 - A1$ 。	

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



【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 150 μ L，试剂二不变），或延长 35 $^{\circ}$ C 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。

三、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)。

$$PO(\Delta OD_{490}/\text{min/g 鲜重}) = \Delta A \div (W \times V1 \div V) \div 0.001 \div T = 333.3 \times \Delta A \div W$$

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)。

$$PO(\Delta OD_{490}/\text{min/mg prot}) = \Delta A \div (V1 \times Cpr) \div 0.001 \div T = 333.3 \times \Delta A \div Cpr$$

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)。

$$PO(\Delta OD_{490}/\text{min /mL}) = \Delta A \div V1 \div 0.001 \div T = 333.3 \times \Delta A$$

4. 按细胞数量计算：

单位定义：每分钟每 10⁴ 个细胞在反应体系中使 490nm 处吸光值变化 0.001 为一个酶活单位(U)。

$$PO(\Delta OD_{490}/\text{min /mL}) = \Delta A \div (500 \times V1 \div V) \div 0.001 \div T = 333.3 \times \Delta A \div 500$$

V ---加入提取液体积，1mL

W ---样本质量，g

T ---反应时间，30min

$V1$ ---加入样本体积，0.1mL

500---细胞数量，万

Cpr ---样本蛋白质浓度，mg/mL

注意事项：

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
2. 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：

4 $^{\circ}$ C 保存六个月。

