



多胺氧化酶检测试剂盒

PAO Assay Kit

微量法

产品编号: AK371M

产品规格: 100T/96S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
AK371-A	120mL×1 瓶	4℃保存
AK371-B	3mL×1 瓶	4℃保存
AK371-C	1.5mL×1 瓶	4℃保存
AK371-D	1.5mL×1 瓶	4℃保存

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

意义: 多胺氧化酶 (Polyamine oxidase, PAO) 是催化生物体内多胺氧化的关键酶, 通过调节体内多胺水平和生成物的浓度, 参与各种植物体对逆境胁迫的反应和生长发育过程。

原理: PAO 催化多胺氧化产生过氧化氢, 在过氧化氢酶存在的条件下与底物显色, 在 550nm 下有特征吸收峰, 通过测定吸光值增加速率来反映 PAO 活性。

自备用品:

分光光度计/酶标仪、台式离心机、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板、研钵、冰和蒸馏水。

酶液提取:

- 组织: 按照组织质量 (g) : AK371-A 体积(mL)为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL AK371-A), 进行冰浴匀浆。10000g 4℃离心 20min, 取上清, 置冰上待测。
- 细菌、真菌: 按照细胞数量 (10^4 个) : AK371-A 体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细胞加入 1mL AK371-A), 冰浴超声波破碎细胞 (功率 300w, 超声 3 秒, 间隔 7 秒, 总时间 3min); 然后 10000g, 4℃, 离心 10min, 取上清置于冰上待测。
- 血清等液体: 直接测定。

测定步骤:

- 分光光度计/酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 550nm, 蒸馏水调零。
- 样本测定表

试剂名称	测定管 (μ L)
AK371-A	140
AK371-B	20
AK371-C	10
样本	20
AK371-D	10

迅速混匀, 于 550nm 下测定初始吸光值 A1 与 30min 后吸光值 A2, 计算 $\Delta A = A2 - A1$ 。

PAO 活性计算:

a. 使用微量比色皿计算:

- 按样本蛋白浓度计算:

单位定义：每 mg 组织蛋白在每 mL 反应体系中每分钟 A550 变化 0.001 为一个酶活力单位。

$$\text{PAO (U/mg prot)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div 0.001 \div T = 333.33 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

2. 按样本鲜重计算：

单位定义：每 g 组织在每 mL 反应体系中每分钟 A550 变化 0.001 为一个酶活力单位。

$$\text{PAO (U/g 鲜重)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 0.001 \div T = 333.33 \times \Delta A \div W$$

3. 按细菌或细胞密度计算：

单位定义：每 1 万个细菌或细胞在每 mL 反应体系中每分钟 A550 变化 0.001 为一个酶活力单位。

$$\text{PAO (U/10}^4 \text{ cell)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 0.001 \div T = 0.667 \times \Delta A$$

4. 按液体体积计算：

单位的定义：每 mL 液体样本在每 mL 反应体系中每分钟 A550 变化 0.001 为一个酶活力单位。

$$\text{PAO (U/mL)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div 0.001 \div T = 333.33 \times \Delta A$$

注：V 反总：反应体系总体积，0.2mL；V 样：加入样本体积，0.02 mL；V 样总：加入提取液体积，1 mL；T：反应时间，30 min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；500：细菌或细胞总数，500 万。

b. 使用 96 孔板测定计算：

1. 按样本蛋白浓度计算：

单位定义：每 mg 组织蛋白在每 mL 反应体系中每分钟 A550 变化 0.0005 为一个酶活力单位。

$$\text{PAO (U/mg prot)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div 0.0005 \div T = 666.67 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

2. 按样本鲜重计算：

单位定义：每 g 组织在每 mL 反应体系中每分钟 A550 变化 0.0005 为一个酶活力单位。

$$\text{PAO (U/g 鲜重)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 0.0005 \div T = 666.67 \times \Delta A \div W$$

3. 按细菌或细胞密度计算：

单位定义：每 1 万个细菌或细胞在每 mL 反应体系中每分钟 A550 变化 0.0005 为一个酶活力单位。

$$\text{PAO (U/10}^4 \text{ cell)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 0.0005 \div T = 1.333 \times \Delta A$$

4. 按液体体积计算：

单位的定义：每 mL 液体样本在每 mL 反应体系中每分钟 A550 变化 0.0005 为一个酶活力单位。

$$\text{PAO (U/mL)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div 0.0005 \div T = 666.67 \times \Delta A$$

注：V 反总：反应体系总体积，0.2mL；V 样：加入样本体积，0.02 mL；V 样总：加入提取液体积，1 mL；T：反应时间，30 min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；500：细菌或细胞总数，500 万。