

CheKine™ 多胺氧化酶 (PAO) 活性检测试剂盒 (微量法)

Cat #: KTB1901

Size: 48 T/48 S 96 T/96 S

	多胺氧化酶 (PAO) 活性检测试剂盒 (微量法)		
REF	货号: KTB1901	LOT	批号: 见产品标签
	适用样本: 动植物组织、血清 (浆) 或其他液体		
	保质期: 4°C, 避光保存 6 个月		

原理

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。CheKine™ 多胺氧化酶 (PAO) 活性检测试剂盒 (微量法) 可检测动植物组织血清或血浆等生物样本。在该试剂盒中, PAO 催化多胺氧化产生过氧化氢, 在过氧化物酶存在的条件下与底物显色, 在 500 nm 下有特征吸收峰, 通过测定吸光值增加速率来反映 PAO 活性。

包装清单

试剂盒组分	规格		储存条件
	48 T	96 T	
Reagent I	70 mL	70 mL×2	4°C
Reagent II	1.5 mL	3 mL	4°C, 避光保存
Reagent III	0.75 mL	1.5 mL	4°C, 避光保存
Reagent IV	0.75 mL	1.5 mL	4°C, 避光保存

注意: 正式检测前, 建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。

自备耗材

- 酶标仪或可见分光光度计 (能测 500 nm 处的吸光度)
- 96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头、1.5 mL 离心管
- 水浴锅、低温离心机
- 去离子水
- 匀浆器或研钵 (如果是组织样本)

试剂准备

Reagent I: 即用型; 使用前, 平衡到室温。4°C 保存。

Reagent II: 即用型；使用前，平衡到室温。4℃避光保存。

Reagent III: 即用型；使用前，平衡到室温。4℃避光保存。

Reagent IV: 即用型；使用前，平衡到室温。4℃避光保存。

注意: Reagent II 和 Reagent IV 有一定的刺激性，建议在使用过程中做好个人防护。

样本制备

注意: 建议使用新鲜样本。如果不立即使用，可将样品在-80℃下保存一个月。测定时，应控制解冻的温度和时间。室温环境下解冻时，需在 4 h 内完成样品解冻。

1. 组织：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Reagent I，冰浴匀浆，10,000 g，4℃离心 20 min，取上清液，置冰上待测。

2. 血清（浆）等液体样本：直接检测。若有沉淀，离心后测定。

注意: 如需测定蛋白浓度，推荐使用 Abbkine 货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

1. 酶标仪或可见光分光光度计预热 30 min 以上，调节波长到 500 nm，可见光分光光度计用去离子水调零。
2. 操作表（下述操作在 96 孔板或微量玻璃比色皿中操作）：

试剂	测定孔（μL）
样本	20
Reagent I	140
Reagent II	20
Reagent III	10
Reagent IV	10

3. 迅速混匀，记录 500 nm 处吸光值 A1 和 30 min 后吸光值 A2，计算 $\Delta A=A_2-A_1$ 。

注意: 实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果 ΔA 小于 0.002 可适当加大样本量。如果 ΔA 大于 0.5，样本可用 Reagent I 进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。

结果计算

注意: 我们为您提供的计算公式，包括推导过程计算公式和简洁计算公式。两者完全相等。建议以加粗的简洁计算公式为最终计算公式。

PAO 活性的计算

(1) 按样本蛋白浓度计算：

酶活单位定义：每毫克蛋白在每 mL 反应体系中每分钟 A500 变化 0.001 定义为一个酶活力单位。

$PAO(U/mg\ prot)=\Delta A\times V_{反总}\div(V_{样}\times Cpr)\div0.001\div T=333.33\times\Delta A\div Cpr$

(2) 按样本鲜重计算：

酶活单位定义：每克样本在每 mL 反应体系中每分钟 A500 变化 0.001 定义为一个酶活力单位。

$PAO(U/g\ 鲜重)=\Delta A\times V_{反总}\div(W\times V_{样}\div V_{样总})\div0.001\div T=333.33\times\Delta A\div W$

(3) 按样本体积计算：

酶活单位定义：每毫升液体在每 mL 反应体系中每分钟 A500 变化 0.001 为一个酶活力单位。

$PAO(U/mL)=\Delta A\times V_{反总}\div V_{样}\div0.001\div T=333.33\times\Delta A$

$V_{反总}$ ：反应体系总体积，0.2 mL； $V_{样}$ ：加入的样本体积，0.02 mL； $V_{样总}$ ：提取时加入 Reagent I 的体积，1 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；T：反应时间，30 min；W：样本质量，g。



结果展示

以下数据仅供参考，实验者需根据自己的实验对样品进行检测。

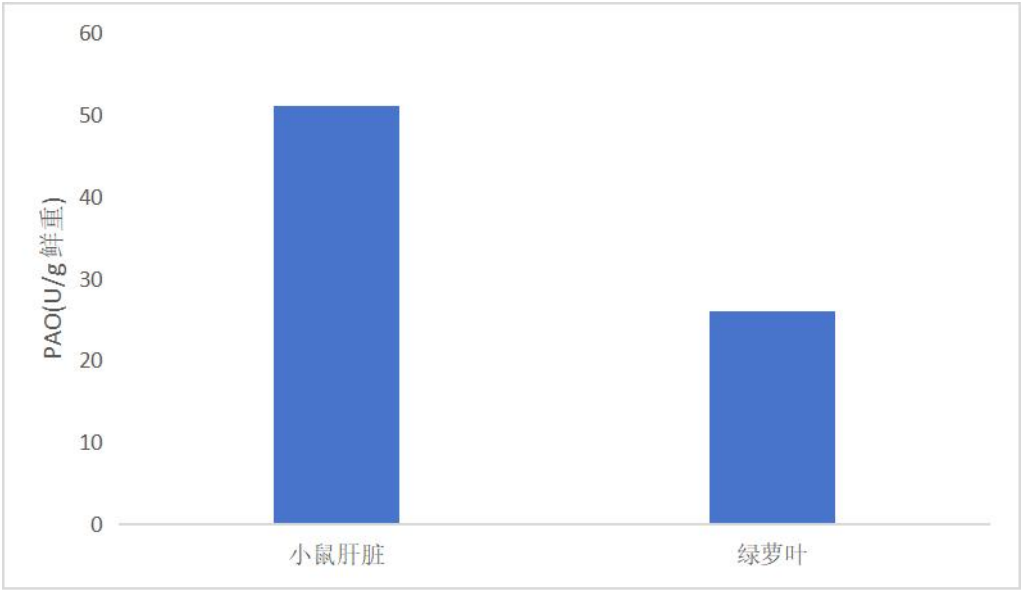


Figure 1. 本试剂盒测定小鼠肝脏和绿萝叶中 PAO 的活性

相关产品

Catalog No.	Product Name
KTB1150	CheKine™ 过氧化物酶（POD）活性检测试剂盒（微量法）
KTB1900	CheKine™ 单胺氧化酶（MAO）活性检测试剂盒（微量法）
KTB1220	CheKine™ 二胺氧化酶（DAO）活性检测试剂盒（微量法）
KTB1140	CheKine™ 多酚氧化酶（PPO）活性检测试剂盒（微量法）

免责声明

本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

