



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：

酶标仪、烘箱、水浴锅、可调式移液器、96 孔板、高氯酸、乙酸、超声波清洗器。

酶液提取：

1. 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。
2. 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。
3. 血清等液体：直接测定。

测定步骤：

1. 分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 550nm，蒸馏水调零。
2. 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。 $\Delta A=A2-A1$ 。

PAO 活性计算：

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 0.001 为一个酶活力单位。

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

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: $V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, 0.2mL; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.02 mL; $V_{\text{样总}}$: 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。