

## Phenoloxidase Activity Assay Kit

### 酚氧化酶(PO)活性检测试剂盒 分光法

产品编号	产品名称	规格
BL1761A	酚氧化酶(PO)活性检测试剂盒 分光法	48T

#### 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	60mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	30mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	粉末×2 瓶	4°C保存	用前取一瓶甩几下使粉末落入底部, 再加 11mL 的试剂一溶解 (可超声溶解), 溶解后的试剂仍 4°C 保存且一个月内用完。

#### 使用方法:

##### 一、样本准备

###### 1. 组织样本:

- 称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆;
- 12000rpm, 4°C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:

- 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清;
- 取  $5 \times 10^6$  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);
- 12000rpm 4°C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

- 可见分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 490nm, 蒸馏水调零。
- 在 1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm) 中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管
样本	350
试剂二	350
混匀, 立即在 490nm 处读取 A1 值, 35°C 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 $\Delta A$  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  $V_1$ （如增至 500 $\mu$ L，试剂二不变），或延长 35 $^{\circ}$ C 孵育时间  $T$ （如增至 60min 读取  $A_2$ ），则改变后的  $W$  和  $V_1$  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)。

$$PO(\Delta OD_{490}/\text{min}/g \text{ 鲜重}) = \Delta A \div (W \times V_1 \div V) \div 0.001 \div T = 95.2 \times \Delta A \div W$$

#### 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)。

$$PO(\Delta OD_{490}/\text{min}/\text{mg prot}) = \Delta A \div (V_1 \times C_{pr}) \div 0.001 \div T = 95.2 \times \Delta A \div C_{pr}$$

#### 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)。

$$PO(\Delta OD_{490}/\text{min} / \text{mL}) = \Delta A \div V_1 \div 0.001 \div T = 95.2 \times \Delta A$$

#### 4. 按细胞数量计算：

单位定义：每分钟每 10<sup>4</sup> 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)。

$$PO(\Delta OD_{490}/\text{min} / \text{mL}) = \Delta A \div (500 \times V_1 \div V) \div 0.001 \div T = 95.2 \times \Delta A \div 500$$

$V$ ---加入提取液体积，1mL

$V_1$ ---加入样本体积，0.35mL

$W$ ---样本质量，g

500---细胞数量，万

$T$ ---反应时间，30min

$C_{pr}$ ---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。

