



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

多酚氧化酶测定

方法: 多酚氧化酶将酪氨酸氧化成二羟基苯丙氨酸, 二羟基苯丙氨酸又被氧化成邻醌。后者伴随着 280 nm 处吸光度的增加。在初始滞后后的 5-10 分钟内, 增加速率与酶浓度成正比并且呈线性。在指定条件下, 在 25°C、pH 6.5 下, 一个单位会导致 280 nm 处的吸光度变化为每分钟 0.001。

试剂

- 0.5 M 磷酸钾缓冲液, pH 6.5
- 0.001 M L-酪氨酸

酶液

在试剂级水中以 1 mg/ml 的浓度溶解。在试剂级水中进一步稀释至 200-400 单位/毫升的浓度。

程序

将分光光度计调整到 280 nm 和 25°C。移液到每个比色皿中, 如下所示:

0.5 M 磷酸盐缓冲液, pH 6.5	1.0 毫升
0.001 M L-酪氨酸	1.0 毫升
试剂级水	0.9 毫升

通过毛细管将氧气鼓泡到比色皿中 4-5 分钟, 使该反应混合物充氧。将比色皿转移到分光光度计并记录 A_{280} 4-5 分钟以达到温度平衡并建立空白 (如果有)。添加 0.1 ml 适当稀释的酶并记录 A_{280} 10-12 分钟。从曲线的线性部分确定 ΔA_{280} 。预计会有 2-3 分钟的非线性“滞后”。

计算

$$\text{Units/mg} = \frac{\Delta A_{280}/\text{min} \times 1000}{\text{mg enzyme in reaction}}$$