

抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 活性检测试剂盒

(紫外分光光度法)

注意：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

产品货号：BA1185

产品规格：50管/48样

产品简介：

APX是植物清除活性氧的重要抗氧化酶之一，也是抗坏血酸代谢的关键酶之一。APX具有多种同工酶，分别定位于叶绿体、胞质、线粒体、过氧化物和乙醛酸体，以及过氧化体和类囊体膜上。APX催化H₂O₂氧化AsA，是植物AsA的主要消耗者。APX的活性直接影响到AsA的含量，在胁迫和解胁迫条件下，APX与AsA具有一定的负相关性。

APX催化H₂O₂氧化AsA，通过测定AsA的氧化速率，可计算得APX活力。

产品内容：

试剂一：液体90mL×1瓶，4℃保存；

试剂二：粉剂×1瓶，4℃保存。临用前加入5mL双蒸水充分溶解；

试剂三：液体5mL×1瓶，4℃保存。

需自备的仪器和用品：

低温离心机、紫外分光光度计、1mL石英比色皿、移液枪、研钵、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、粗酶液提取：

按照组织质量 (g)：试剂一体积(mL)为1：5~10的比例（建议称取约0.1g组织，加入1mL试剂一）进行冰浴匀浆。13000g，4℃离心20min，取上清置冰上待测。

二、测定操作表：

1、分光光度计预热30min以上，调节波长到290nm，用蒸馏水调零。

2、试剂一在25℃中预热30min以上。

3、空白管：依次在1mL石英比色皿中加入100μL蒸馏水、700μL预热的试剂一、100μL试剂二和100μL试剂三，迅速混匀后在290nm测定10s和130s光吸收A1和A2， $\Delta A_{\text{空白管}}=A1-A2$ 。

4、测定管：依次在1mL石英比色皿中加入100μL上清液、700μL预热的试剂一、100μL试剂二和100μL试剂三，迅速混匀后在290nm测定10s和130s光吸收A3和A4， $\Delta A_{\text{测定管}}=A3-A4$ 。

三、APX 活力计算：

(1) 按样本蛋白浓度计算

活性单位定义：每毫克蛋白每分钟氧化1μmol AsA为1U。

$$\text{APX(U/mg prot)} = (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反应}} \times 10^6 \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div T \\ = 1.79 \times (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div \text{Cpr}$$

ϵ ：AsA在290nm处摩尔吸光系数为 $2.8 \times 10^3 \text{L/mol/cm}$ ； d ：比色皿光径 (cm)，1cm； $V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积 (L)， $1000\mu\text{L}=1 \times 10^{-3}\text{L}$ ； 10^6 ： $1\text{mol}=1 \times 10^6\mu\text{mol}$ ； Cpr ：上清液蛋白质浓度 (mg/mL)，需要另外测定，建议



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

使用本公司BCA蛋白质含量测定试剂盒；V样：加入反应体系中上清液体积（mL），100 μ L=0.1ml；T：催化反应时间（min），2min。

（2）按样本质量计算

单位的定义：每g组织每分钟氧化1 μ mol AsA为1U。

$$\text{APX(U/g)} = (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^6 \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \\ = 1.79 \times (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div W$$

ϵ ：AsA在290nm处摩尔吸光系数为 $2.8 \times 10^3 \text{L/mol/cm}$ ；d：比色皿光径（cm），1cm；V反总：反应体系总体积（L），1000 μ L= 1×10^{-3} L； 10^6 ：1mol= $1 \times 10^6 \mu\text{mol}$ ；V样：加入反应体系中上清液体积（mL），100 μ L=0.1mL；V样总：加入试剂一体积，1mL；W，样本质量，g；T：催化反应时间（min），2min。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>