

乙醇酸氧化酶活性检测试剂盒（紫外分光光度法）

产品货号：BA1435

产品规格：50管/48样

产品简介：

乙醇酸氧化酶（EC1.1.3.15）是乙醇酸循环中的一种酶，也是植物光呼吸代谢中的关键酶，催化乙醇酸氧化生成乙醛酸，通过测定乙醇酸氧化酶活性，可以了解植物光合和呼吸代谢的基本方法。

乙醇酸氧化酶催化乙醇酸氧化生成乙醛酸，乙醛酸和盐酸苯肼反应生成乙醛酸苯腙，在324nm有特征吸收峰。

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。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

试验中所需的仪器和试剂：

紫外分光光度计、低温离心机、可调式移液枪、1mL石英比色皿、天平、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

产品组成：

| 试剂名称 | 规格 | 保存条件 |
|------|-----------|------|
| 提取液 | 液体60mL×1瓶 | 2-8℃ |
| 试剂一 | 液体40mL×1瓶 | 2-8℃ |
| 试剂二 | 粉剂×2瓶 | -20℃ |
| 试剂三 | 液体6mL×1瓶 | 2-8℃ |

溶液的配制：

1. 试剂二：临用前加入6mL双蒸水溶解，用不完的试剂分装后-20℃保存，禁止反复冻融。

操作步骤（仅供参考）：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为1：5~10的比例（建议称取约0.1g组织，加入1mL提取液）进行冰浴匀浆，然后10000g，4℃，离心10min，取上清置冰上待测。

细胞或细菌：按照细胞数量（ 10^4 个）：提取液体积（mL）为500~1000：1的比例（建议500万细胞加入1mL提取液），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。

二、测定步骤

1. 紫外分光光度计30min以上，调节波长至324nm，蒸馏水调零。
2. 将试剂一25℃预热15min。
3. 样本测定：1mL石英比色皿中分别加入下列试剂：

| 试剂名称（ μ L） | 空白管 | 标准管 |
|----------------|-----|-----|
| 试剂一 | 650 | 650 |
| 蒸馏水 | - | 50 |
| 样本 | 50 | - |
| 试剂二 | 200 | 200 |
| 试剂三 | 100 | 100 |



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

充分混匀，立即测定 324nm 处 10s 和 190s 吸光值 A1 和 A2，计算 ΔA 测定管=A2 测定-A1 测定， ΔA 空白管=A2 空白-A1 空白， $\Delta A = \Delta A$ 测定管- ΔA 空白管。
(空白管只需做 1-2 次)

三、GO 酶活计算

1. 按蛋白浓度计算

酶活定义：每毫克蛋白每分钟生成 1nmol 乙醛酸苯肼所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{GO 酶活 (U/mg prot)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 392.16 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

2. 按样本质量计算

酶活定义：每克组织每分钟生成 1nmol 乙醛酸苯肼所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{GO 酶活 (U/g 质量)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \div (V_{\text{样}} \times W \div V_{\text{样总}}) \div T = 392.16 \times \Delta A \div W$$

3. 按细胞数量计算

酶活定义：每万细胞每分钟生成 1nmol 乙醛酸苯肼所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{GO 酶活 (U/10}^4\text{cell)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \div (V_{\text{样}} \times 500 \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.784 \times \Delta A$$

ϵ : 乙醛酸苯肼毫摩尔消光系数：17000L/mol/cm； d : 比色皿光径，1cm； $V_{\text{反总}}$: 反应总体积，0.001L； $V_{\text{样}}$: 反应中样本体积，0.05mL； $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积，1mL； Cpr : 样本蛋白浓度，mg/mL，蛋白浓度自行测定； W : 样本质量，g； T : 反应时间，3min；500: 500 万个细胞； 10^9 : 单位换算系数，1mol=10⁹nmol。

注意事项:

1. 测定之前进行预实验，若吸光值 $A1 > 1$ ，请将样本用提取液进行适当的稀释再测定，并在计算公式中乘以稀释倍数。
2. 色素含量较高的样本，可在提取酶时加活性炭吸附。
3. 空白管为检测各试剂组分质量的检测孔，正常情况下，其 OD 值变化不超过 0.02。



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