

抗坏血酸过氧化物酶（APX）活性检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1186

产品规格：100管/96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，APX与AsA具有一定的负相关性。

APX催化H₂O₂氧化AsA，通过测定AsA氧化速率，来计算得APX活性。

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。

产品内容：

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体60mL×2瓶	2-8℃
试剂二	粉剂×1瓶	2-8℃
试剂三	液体3mL×1瓶	2-8℃

溶液的配制：

1. 试剂二：临用前加3mL蒸馏水充分溶解。

需自备的仪器和用品：

低温离心机、紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96孔UV板、移液枪、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样品处理

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

1. 分光光度计/酶标仪预热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：依次在微量石英比色皿/96孔板中加入20μL蒸馏水、140μL预热的试剂一、20μL试剂二和20μL试剂三，迅速混匀后在290nm测定10s和130s光吸收A1和A2， ΔA 空白管=A1-A2。
4. 测定管：依次在微量石英比色皿/96孔板中加入20μL上清液、140μL预热的试剂一、20μL试剂二和20μL试剂三，迅速混匀后在290nm测定10s和130s光吸收A3和A4， ΔA 测定管=A3-A4。

三、APX活性计算

a. 使用微量石英比色皿测定的计算公式如下

(1) 按蛋白浓度计算

活性单位定义：每毫克蛋白每分钟氧化1μmol AsA为1个酶活单位。

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



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

(2) 按样本质量计算

活性单位定义：每克样本每分钟氧化1 μ mol AsA为1个酶活单位。

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

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, 1cm; $V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, $200\mu\text{L} = 2 \times 10^{-4} \text{L}$; 10^6 : 单位换算系数, $1 \text{mol} = 1 \times 10^6 \mu\text{mol}$; C_{pr} : 上清液蛋白质浓度 (mg/mL), 需要另外测定; W : 样本质量, g; $V_{\text{样}}$: 加入反应体系中上清液体积, $20\mu\text{L} = 0.02 \text{mL}$; $V_{\text{样总}}$: 加入试剂一体积, 1mL; T : 催化反应时间, 2min。

b. 使用96孔板测定的计算公式如下

(1) 按蛋白浓度计算

活性单位定义：每毫克蛋白每分钟氧化1 μ mol AsA为1个酶活单位。

$$\text{APX(U/mg prot)} = (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div (\varepsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^6 \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T \\ = 3 \times (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div C_{\text{pr}}$$

(2) 按样本质量计算

活性单位定义：每克样本每分钟氧化1 μ mol AsA为1个酶活单位。

$$\text{APX(U/g质量)} = (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div (\varepsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^6 \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T \\ = 3 \times (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div W$$

ε : AsA在290nm处摩尔吸光系数为 $2.8 \times 10^3 \text{L/mol/cm}$; d : 96孔板光径, 0.6cm; $V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, $200\mu\text{L} = 2 \times 10^{-4} \text{L}$; 10^6 : 单位换算系数, $1 \text{mol} = 1 \times 10^6 \mu\text{mol}$; C_{pr} : 上清液蛋白质浓度 (mg/mL), 需要另外测定; W : 样本质量, g; $V_{\text{样}}$: 加入反应体系中上清液体积, $20\mu\text{L} = 0.02 \text{mL}$; $V_{\text{样总}}$: 加入试剂一体积, 1mL; T : 催化反应时间, 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>