

抗坏血酸氧化酶（AAO）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：BA1179

产品规格：50管/48样

产品简介：

AAO是定位于植物细胞壁的糖蛋白，属“蓝铜氧化酶”家族。细胞壁内的抗坏血酸和AAO与细胞壁的代谢和生长有着密切的联系。AAO氧化AsA所形成的MDHA可通过质膜上的细胞色素b还原，该过程中电子的跨膜运输能够促进细胞生长。

AAO可直接氧化AsA，通过测定AsA的氧化量，可计算得AAO活力。

产品内容：

提取液：液体60mL×1瓶，4℃保存。

试剂一：液体50mL×1瓶，4℃保存。

试剂二：粉剂×1瓶，4℃避光保存。临用前加入10mL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、1mL石英比色皿、可调式移液器、研钵、冰、蒸馏水。

操作步骤：

一、粗酶液提取：

称取约0.1g样品，加提取液1.0 mL，冰上充分研磨，11000g 4℃离心20min，取上清液待测。

二、AAO测定操作：

1. 分光光度计预热30 min，调节波长到265 nm。
2. 试剂一在25℃水浴锅中预热30 min。
3. 按下表依次在微量石英比色皿/96孔板中加入试剂

	蒸馏水	上清液	试剂一	试剂二
空白管	100		850	50
测定管		100		

迅速混匀后在265nm测定10 s和130 s光吸收的吸光值,分别为A1、A2，用A1减A2，得到△A空白管、△A测定管。

三、AAO活性计算：

使用1mL石英比色皿测定的计算公式如下

(1) 按蛋白浓度计算

AAO活性单位定义：25℃中每毫克蛋白每分钟氧化1μmol AsA为1U。

$$\text{AAO(U/mg prot)} = (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反应总}} \times 10^6 \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div T$$
$$= 0.0923 \times (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div \text{Cpr}$$

(2) 按样本鲜重计算

AAO活性单位定义：25℃中每克样品每分钟氧化1μmol AsA为1U。

$$\text{AAO(U/g 鲜重)} = (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反应总}} \times 10^6 \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T$$
$$= 0.0923 \times (\Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}) \div W$$

ϵ : AsA 在 265nm 处摩尔吸光系数为 $5.42 \times 10^4 \text{ L/mol/cm}$; d : 比色皿光径 (cm), 1 cm; $V_{\text{反应总}}$: 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, 建议使用本公司 BCA 蛋白质含量测定试剂盒; $V_{\text{样}}$: 加入反应体系中上清液体积 (mL), $100 \mu\text{L} = 0.1 \text{ mL}$; T : 催化反应时间 (min), 2min。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com