

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， ΔA 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， ΔA 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。

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

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



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

(min), 2min。

(2) 按样本质量计算

单位的定义：每g组织每分钟氧化 $1\mu\text{mol}$ AsA为1U。

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

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; $V_{\text{反应总}}$: 反应体系总体积 (L), $1000\mu\text{L} = 1 \times 10^{-3} \text{L}$; 10^6 : $1\text{mol} = 1 \times 10^6 \mu\text{mol}$; $V_{\text{样}}$: 加入反应体系中上清液体积 (mL), $100\mu\text{L} = 0.1\text{mL}$; $V_{\text{样总}}$: 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

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