

漆酶活性检测试剂盒（可见分光光度法）

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：BA1256

产品规格：50管/48样

产品简介：

漆酶（CE1.10.3.2）是一种含铜的多酚氧化酶，属于铜蓝氧化酶家族，漆酶存在菇、菌及植物中，是一种环保型酶，其独特的催化性质在生物检测中有广泛的应用。

漆酶分解底物ABTS产生ABTS自由基，在420nm处的吸光系数远大于底物ABTS，测定ABTS自由基的增加速率，可计算得漆酶活性。

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×2瓶，4℃避光保存。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、低温离心机、1mL玻璃比色皿、可调式移液枪、天平、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水，水浴锅。

操作步骤：

一、粗酶液提取：

（1）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。10000g 4℃离心10min，取上清，置冰上待测。

（2）细胞：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4℃，10000g离心10min，取上清置于冰上待测。

（3）培养液：直接检测。

二、测定步骤：

1、分光光度计预热30min以上，调节波长至420nm，蒸馏水调零。

2、水浴锅温度调至45℃。

3、工作液的配制：一瓶试剂二用25mL试剂一溶解。现用现配。

4、操作表：在1mL玻璃比色皿中分别加入下列试剂：

样本名称	测定管	空白管
样本（ μ L）	150	-
蒸馏水（ μ L）	-	150
工作液（ μ L）	850	850

在1mL玻璃比色皿中分别加入上述试剂，充分混匀后于420nm处测定10s时的吸光值A1，迅速置于45℃水浴3min，拿出迅速擦干测定190s时的吸光值A2，计算 $\Delta A_{\text{测定管}} = A2_{\text{测定}} - A1_{\text{测定}}$ ， $\Delta A_{\text{空白管}} = A2_{\text{空白}} - A1_{\text{空白}}$ ， $\Delta A = \Delta A_{\text{测定管}} - \Delta A_{\text{空白管}}$ 。空白管只需做一次。



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

三、漆酶活计算：

(1) 按蛋白浓度计算

酶活定义：每毫克蛋白每分钟氧化1nmol底物ABTS所需的酶量为一个酶活力单位。

漆酶酶活 (U/mg prot) = $\Delta A \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 61.7 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$

(2) 按样本质量计算

酶活定义：每克样品每分钟氧化1nmol底物ABTS所需的酶量为一个酶活力单位。

漆酶酶活 (U/g 鲜重) = $\Delta A \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \div (V_{\text{样}} \times W \div V_{\text{样总}}) \div T = 61.7 \times \Delta A \div W$

(3) 按细胞数量计算

酶活定义：每 10^4 个细胞每分钟氧化1nmol底物ABTS所需的酶量为一个酶活力单位。

漆酶酶活 (U/ 10^4 cell) = $\Delta A \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \div (V_{\text{样}} \times 500 \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.123 \times \Delta A$

(4) 按液体体积计算

酶活定义：每mL液体每分钟氧化1nmol底物ABTS所需的酶量为一个酶活力单位。

漆酶酶活 (U/mL) = $\Delta A \div \epsilon \div d \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \div V_{\text{样}} \div T = 61.7 \times \Delta A$

ϵ : ABTS 摩尔消光系数: 36000L/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, 0.15mL; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL; C_{pr} : 样本蛋白浓度, mg/mL, 蛋白浓度需自行测定; W , 样本质量, g; T : 反应时间, 3min。

注意事项：

- 1、工作液需临用前配制，并且尽快使用，4℃保存一周，若变色则不能使用。
- 2、测定之前进行预实验，若吸光值较高，请将样品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。
- 3、空白管为检测各试剂组分质量的检测孔，正常情况下，OD值变化不超过0.05。



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

QQ: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com