

木质素过氧化物酶 (Lip) 检测试剂盒 (微量法)

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：BA1215

产品规格：100管/96样

产品简介：

木质素过氧化物酶 (EC1.11.1.14) 是一种含亚铁血红素的过氧化物酶，属于木质素降解酶系，在木质素生物降解、造纸工业、纺织工业、芳香化合物转化与降解及环境污染控制等方面具有较大的应用潜力。木质素过氧化物酶氧化藜芦醇生成藜芦醛，在310nm处有特征吸收峰。

产品内容：

试剂一：液体115mL×1瓶，4℃保存。

试剂二：液体4mL×1瓶，4℃避光保存。

试剂三：液体2mL×1支，4℃保存。

需自备的仪器和用品：

天平、研钵、低温离心机、紫外分光光度计/酶标仪、1mL石英比色皿/96孔板 (UV板)。

操作步骤：

一、酶液提取

1. 组织：按照质量 (g)：试剂一体积 (mL) 为 1：5~10 的比例 (建议称取约 0.1g，加入 1mL 试剂一) 加入试剂一，冰浴匀浆后于 4℃，10000g 离心 10min，取上清置于冰上待测。
2. 细胞：按照细胞数量 (10⁴个)：试剂一体积 (mL) 为 500~1000：1 的比例 (建议 500 万细胞加入 1mL 试剂一)，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. 培养液或其它液体：直接检测。

二、测定操作

试剂名称 (μL)	测定管
试剂一	120
试剂二	40
样品	20
试剂三	20

充分混匀，于微量石英比色皿/96孔板，蒸馏水调零，测定310nm处10s和310s吸光值，记为A1和A2， $\Delta A = A2 - A1$

三、酶活计算公式

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

1. 按照蛋白浓度计算

酶活性定义：每毫克蛋白每分钟氧化1nmol藜芦醇所需的酶量为一个酶活力单位。

$\text{LiP活性 (nmol/min/mg prot)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 215 \times \Delta A \div \text{Cpr}$



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

2. 按照样本质量计算

酶活性定义：每克样品每分钟氧化1nmol藜芦醇所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{LiP活性 (nmol/min/g)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times W \div V_{\text{样总}}) \div T = 215 \times \Delta A \div W$$

3. 按照细胞数量计算

酶活性定义：每 10^4 个细胞每分钟氧化1nmol藜芦醇所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{LiP活性 (nmol/min/10}^4\text{cell)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{细胞数量} \div V_{\text{样总}}) \div T = 215 \times \Delta A \div \text{细胞数量}$$

4. 按照液体体积计算

酶活性定义：每升培养液每分钟氧化1nmol藜芦醇所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{LiP活性 (nmol/min/L)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 2.15 \times 10^5 \times \Delta A$$

ϵ : 藜芦醛摩尔消光系数: 9300L/mol/cm; d : 比色皿光径, 1cm; $V_{\text{反总}}$: 反应总体积, 1mL; $V_{\text{样}}$: 反应中样本体积, 0.1mL; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL; C_{pr} : 样本蛋白浓度, mg/mL; W : 样本质量, g; T : 反应时间, 5min。

b. 用96孔板测定的计算公式如下

1. 按照蛋白浓度计算

酶活性定义：每毫克蛋白每分钟氧化1nmol藜芦醇所需的酶量为一个酶活力单位 (U)。

$$\text{LiP活性 (U/mg prot)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 430 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

2. 按照样本质量计算

酶活性定义：每克样品每分钟氧化1nmol藜芦醇所需的酶量为一个酶活力单位 (U)。

$$\text{LiP活性 (U/g)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times W \div V_{\text{样总}}) \div T = 430 \times \Delta A \div W$$

3. 按照细胞数量计算

酶活性定义：每 10^4 个细胞每分钟氧化1nmol藜芦醇所需的酶量为一个酶活力单位 (U)。

$$\text{LiP活性 (U/10}^4\text{cell)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{细胞数量} \div V_{\text{样总}}) \div T = 430 \times \Delta A \div \text{细胞数量}$$

4. 按照液体体积计算

酶活性定义：每升培养液每分钟氧化1nmol藜芦醇所需的酶量为一个酶活力单位 (U)。

$$\text{LiP活性 (U/L)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 4.3 \times 10^5 \times \Delta A$$

ϵ : 藜芦醛摩尔消光系数: 9300L/mol/cm; d : 比色皿光径, 0.5cm; $V_{\text{反总}}$: 反应总体积, 1mL; $V_{\text{样}}$: 反应中样本体积, 0.1mL; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL; C_{pr} : 样本蛋白浓度, mg/mL; W : 样本质量, g; T : 反应时间, 5min。



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