

乙醇酸氧化酶活性检测试剂盒（紫外分光光度法）

产品货号：BA1435

产品规格：50管/48样

产品简介：

乙醇酸氧化酶（EC1.1.3.15）是乙醇酸循环中的一种酶，也是植物光呼吸代谢中的关键酶，催化乙醇酸氧化生成乙醛酸，通过测定乙醇酸氧化酶活性，可以了解植物光合和呼吸代谢的基本方法。

乙醇酸氧化酶催化乙醇酸氧化生成乙醛酸，乙醛酸和盐酸苯肼反应生成乙醛酸苯腙，在324nm有特征吸收峰。

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。

试验中所需的仪器和试剂：

紫外分光光度计、低温离心机、可调式移液枪、1mL石英比色皿、天平、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体60mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体40mL×1瓶	2-8℃
试剂二	粉剂×2瓶	-20℃
试剂三	液体6mL×1瓶	2-8℃

溶液的配制：

1. 试剂二：临用前加入6mL双蒸水溶解，用不完的试剂分装后-20℃保存，禁止反复冻融。

操作步骤（仅供参考）：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

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，然后10000g，4℃，离心10min，取上清置冰上待测。

细胞或细菌：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10000g，4℃，离心10min，取上清置于冰上待测。

二、测定步骤

1. 紫外分光光度计30min以上，调节波长至324nm，蒸馏水调零。
2. 将试剂一25℃预热15min。
3. 样本测定：1mL石英比色皿中分别加入下列试剂：

试剂名称（ μ L）	空白管	标准管
试剂一	650	650
蒸馏水	-	50
样本	50	-
试剂二	200	200
试剂三	100	100

充分混匀，立即测定324nm处10s和190s吸光值A1和A2，计算 ΔA 测定管=A2



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

测定-A1 测定, ΔA 空白管=A2 空白-A1 空白, $\Delta A = \Delta A$ 测定管- ΔA 空白管。
(空白管只需做 1-2 次)

三、GO 酶活计算

1. 按蛋白浓度计算

酶活定义: 每毫克蛋白每分钟生成 1nmol 乙醛酸苯肼所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{GO 酶活 (U/mg prot)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 392.16 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

2. 按样本质量计算

酶活定义: 每克组织每分钟生成 1nmol 乙醛酸苯肼所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{GO 酶活 (U/g 质量)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \div (V_{\text{样}} \times W \div V_{\text{样总}}) \div T = 392.16 \times \Delta A \div W$$

3. 按细胞数量计算

酶活定义: 每万细胞每分钟生成 1nmol 乙醛酸苯肼所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{GO 酶活 (U/10}^4\text{cell)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^9 \div (V_{\text{样}} \times 500 \div V_{\text{样总}}) \div T = 0.784 \times \Delta A$$

ϵ : 乙醛酸苯肼摩尔消光系数: 17000L/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, 0.05mL; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL; Cpr : 样本蛋白浓度, mg/mL, 蛋白浓度自行测定; W : 样本质量, g; T : 反应时间, 3min; 500: 500 万个细胞; 10^9 : 单位换算系数, 1mol=10⁹nmol。

注意事项:

1. 测定之前进行预实验, 若吸光值 $A1 > 1$, 请将样本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。
2. 色素含量较高的样本, 可在提取酶时加活性炭吸附。
3. 空白管为检测各试剂组分质量的检测孔, 正常情况下, 其 OD 值变化不超过 0.02。



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