乳酸氧化酶（LOD)活性测定试剂盒（微板法）

产品货号：BA3550

产品规格：96样

产品说明：

乳酸氧化酶(LOD，EC1.1.3.2)是一种常见于多种微生物中的氧化还原酶，在微生物的能量代谢、乳酸清除代谢中发挥不可替代的作用。

乳酸氧化酶催化乳酸和氧反应生成丙酮酸和过氧化氢，过氧化氢和特异显色剂反应产生(粉)红色产物，该产物在510nm 有最大吸收峰，进而得到乳酸氧化酶酶活性大小。

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件	备注
提取液	液体 120mL×1 瓶	2-8℃	
试剂一	液体 15mL×1 瓶	2-8℃	
试剂二	液体 8mL×1 瓶	2-8℃	
试剂三	液体×1 支	2-8℃	临用前甩几下使液体落入底部，每次吸取15μL 液体至一个空的 2mL EP 管，再往 EP 管中加入 lmL 蒸馏水混匀备用(半个月内用完)。
标准管	液体 mL×1 支	2-8℃	

需自备的仪器和用品：

酶标仪、96 孔板、天平、移液器、研钵、水浴锅、离心机、蒸馏水。

乳酸氧化酶(LOD)活性测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费!

1. 样本制备：

(1) 组织样本：0.1g 组织样本(水分充足的样本建议取 0.2g 左右)，加 1mL 的提取液冰浴匀浆，粗提液全部转移到 EP 管中，12000rpm，4°C 离心 10min，上清液待测。

(2) 细胞/细菌样本：先收集细胞到离心管内，离心后弃上清；取约 500 万细胞/细菌加入 1mL 提取液研磨，超声波破碎细胞/细菌(冰浴，功率 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次)；12000rpm 4°C 离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照细胞数量(10^4):提取液(mL)为 500~1000:1 的比例进行提取。

(3) 液体样本：直接检测。若浑浊，离心后取上清检测。

2. 上机检测：

(1) 酶标仪预热 30min，设定波长到 510nm。

(2) 所有室温至室温(25°C)。在 96 孔板中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管
试剂一	100
试剂二	60
样本	20
混匀，37℃孵育 5min	

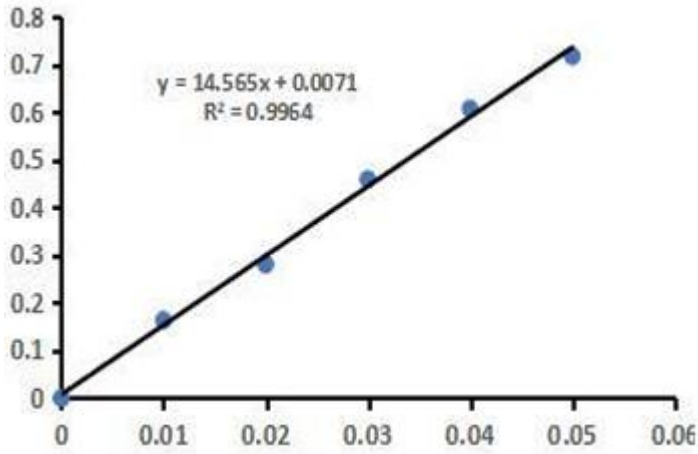
扫一扫 加微信
郑州乐业生物科技有限公司
Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd
地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号
免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799
Q Q：807961520 731791866
邮箱：zzlybio@126.com

试剂三	20
混匀，于 510nm 下读取吸光值 A1，37℃孵育 20min 后读取吸光值 A2，ΔA=A2-A1。	

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

结果计算：

1. 标准曲线：y=14.565x+0.0071；x 为 H_2O_2 标准品(μmoL)，y 为ΔA。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

2. 按样本鲜重计算：

单位定义：在 37°C，每克组织每小时生成 1μmoLH_2O_2 定义为一个酶活单位(U)。

LOD (μmoL/h/g 鲜重)=[(ΔA-0.0071)÷14.565]÷(W×V1÷V)÷T =10.3×(ΔA-0.0071)÷W

3. 按样本蛋白浓度计算：

单位定义：在 37°C，每毫克组织蛋白每小时生成 1μmoLH_2O_2 定义为一个酶活单位(U)。

LOD (μmoL/h/mg prot)=[(ΔA-0.0071)÷14.565]÷(V1×Cpr) ÷T=10.3×(ΔA-0.0071)÷Cpr

4. 按细胞/细菌数量计算：

单位定义：在 37°C，每 10^4 个细胞/细菌每小时生成 1nmoLH_2O_2 定义为一个酶活单位(U)。

LOD (nmoL/h/10^4 cell)=[(ΔA-0.0071)÷14.565]÷(500×V1÷V)×10^3÷T=20.6×(ΔA-0.0071)

5. 按液体体积计算：

单位定义：在 37°C，每毫升液体每小时生成 1μmoLH_2O_2 定义为一个酶活单位(U)。

LOD (nmoL/h/mL)=[(ΔA-0.0071)÷14.565]÷V1÷T=10.3×(ΔA-0.0071)

V---加入提取液体积，1mL；V1--加入样本体积，0.02mL；

T--反应时间，20min=1/3h；W--样本质量，g；

500---细胞数量，万；

Cpr---样本蛋白质浓度，mg/mL，建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。