

ASO 检测方法
(Ascorbate oxidase)
S10109

1 原理

Ascorbic acid + 1/2 O₂ $\xrightarrow{\text{AOX}}$ Dehydroascorbic acid + H₂O

抗坏血酸的消耗可以通过 245nm 的光吸收进行检测。

2 试剂:

A: 10mM 抗坏血酸溶液,含 1mM EDTA:称取 176mg 抗坏血酸溶于 100ml 的水中,加入 0.2ml 0.5M EDTA,保存温度 4 度。

B 10mM Na₂HPO₄ 溶液:取 3.58g Na₂HPO₄ 溶于 1L 水中, 保存温度 4 度

C 0.2M KH₂PO₄ 溶液,含 1mM EDTA:称取 5.44g KH₂PO₄,溶于 200ml 水中直至完全溶

解,加入 400ul 0.5M EDTA,保存温度 4 度

D 工作液的配制: 500ul 10mM 抗坏血酸溶液 4.5ml KH₂PO₄ 溶液 25ml Na₂HPO₄ 溶液

液调整 pH 为 5.6,新鲜配制

E 酶稀释液: 10mM Na₂HPO₄ 溶液,含 0.05% BSA:称取 10mg BSA 溶于 20ml 10mM Na₂HPO₄ 溶液, 保存于 4 度

3 操作规程:

3.1 仪器参数设定

若仪器中无已保存参数, 按以下参数设定。若已有相关参数, 调取后确认。

检测方法:动力学扫描

测量波长: 245nm 反应时间:180S

延迟时间: 60S 积分时间: 120S

系数/因子: 8.65 测量温度: 30+0.5℃

3.2 样品准备

若待测样品为固体, 可以按 10mg 样品/1000ul 超纯水比例溶解。溶解后于 2-8 度放置 30min。

3.3 检测方法

3.3.1 在石英比色皿中加入 3.0ml 工作液, 于 30 度孵育 2min。

3.3.2 加入 100ul 样品, 温和混匀后开始测定。

3.3.3 测定结束后, 记录相应数值:起始读数、 $\Delta A/\text{min}$ 、活性值(U/ml)。

3.3.4 活性值(U/ml) 范围为 0.15-0.40U/ml, 若超出范围, 待测样品需经酶稀释液稀释后再次进行检测。

3.3.5 计算公式: 活性(U/ml)= $\Delta A_{245\text{nm}} \times 8.65 \times \text{df}$ (稀释 倍数)