



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性检测试剂盒(微量法)

货号: R41831

规格: 100T/96S

保质期: 6个月

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
试剂-A	120ml×1瓶	2-8℃保存
试剂-B	粉剂×1瓶	2-8℃避光保存
试剂-C	3ml×1瓶	2-8℃保存

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

简介

意义: 抗坏血酸过氧化物酶 (Ascorbate Peroxidase, APX) 是植物清除活性氧的重要抗氧化酶之一, 也是抗坏血酸代谢的关键酶之一。APX 具有多种同功酶, 分别定位于叶绿体、胞质、线粒体、过氧化物和乙醛酸体, 以及过氧化体和类囊体膜上。APX 催化 H_2O_2 氧化 AsA, 是植物 AsA 的主要消耗者。APX 的活性直接影响到 AsA 的含量, APX 与 AsA 具有一定的负相关性。

原理: APX 催化 H_2O_2 氧化 AsA, 通过测定 AsA 氧化速率, 来计算得 APX 活性。

自备用品:

低温离心机、紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板、移液枪、研钵、冰和蒸馏水。

试剂预配制:

试剂-B: 临用前加入 3mL 蒸馏水充分溶解备用, 4℃避光保存, 并且 3 天内使用完



粗酶液提取:

按照组织质量(g): 试剂-A 体积(mL)为 1: 5~10 的比例(建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 试剂-A)冰浴匀浆, 13000g, 4℃离心 20min, 取上清置冰上待测。

测定步骤:

1. 分光光度计预热 30min, 调节波长到 290 nm, 蒸馏水调零。
2. 试剂-A 置于 25℃水浴中保温 30min。
3. 在 1mL 石英比色皿中按顺序加入下列试剂:

试剂名称	测定管(ul)
上清液	20
试剂-A	140
试剂-B	20
试剂-C	20
迅速混匀后在290nm测定10s和130s光吸收A1和A2, $\Delta A = A1 - A2$ 。	

计算公式:

a. 使用微量石英比色皿测定的计算公式如下

1. 按照样本蛋白浓度计算

活性单位定义: 每毫克蛋白每分钟氧化 1 μ mol AsA 为 1 个酶活单位。

$$APX (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg prot}) = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^6 \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T = 1.79 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

2. 按照样本质量计算

活性单位定义: 每 g 组织每分钟氧化 1 μ mol AsA 为 1 个酶活单位。

$$APX (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}) = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^6 \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 1.79 \times \Delta A \div W$$

注: ϵ : AsA 在 290nm 处摩尔吸光系数为 $2.8 \times 10^3 \text{ L}/\text{mol}/\text{cm}$; d : 比色皿光径 (cm), 1cm; $V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积 (L), $200\mu\text{L} = 2 \times 10^{-4} \text{ L}$; 10^6 :

$1\text{mol} = 1 \times 10^6 \mu\text{mol}$; C_{pr} : 上清液蛋白质浓度 (mg/mL), 需要另外测定, 建议使用本公司 BCA 蛋白质含量测定试剂盒; W : 样品质量; $V_{\text{样}}$: 加入反应体系中上清液体积 (mL), $20\mu\text{L} = 0.02\text{mL}$; $V_{\text{样总}}$: 提取液体积, 1 mL; T : 催化反应时间 (min), 2min。

- b. 使用 96 孔板测定的计算公式如下



1. 按照样本蛋白浓度计算

活性单位定义: 每毫克蛋白每分钟氧化 $1\mu\text{mol}$ AsA 为 1 个酶活单位。

$$\text{APX } (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg prot}) = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^6 \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div T = 3.58 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

2. 按照样本质量计算

活性单位定义: 每 g 组织每分钟氧化 $1\mu\text{mol}$ AsA 为 1 个酶活单位。

$$\text{APX } (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}) = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^6 \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 3.58 \times \Delta A \div W$$

注: ϵ : AsA 在 290nm 处摩尔吸光系数为 $2.8 \times 10^3 \text{ L}/\text{mol}/\text{cm}$; d : 比色皿光径 (cm), 1cm; $V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积 (L), $200\mu\text{L} = 2 \times 10^{-4} \text{ L}$; 10^6 :

$1\text{mol} = 1 \times 10^6 \mu\text{mol}$; Cpr : 上清液蛋白质浓度 (mg/mL), 需要另外测定, 建议使用本公司 BCA 蛋白质含量测定试剂盒; W : 样品质量; $V_{\text{样}}$: 加入反应体系中上清液体积 (mL), $20\mu\text{L} = 0.02\text{mL}$; $V_{\text{样总}}$: 提取液体积, 1 mL; T : 催化反应时间 (min), 2min。



源叶