



草酸氧化酶(OXO)活性测定试剂盒

可见分光光度法

货号: R45046-48S

产品简介:

草酸氧化酶(Oxalate Oxidase, 简称OXO) 是一种广泛存在于植物、真菌和细菌中的氧化还原酶, 其核心功能是催化草酸(乙二酸)的氧化分解, 生成二氧化碳(CO₂)和过氧化氢(H₂O₂)。生成的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, 通过计算得到草酸氧化酶的酶活大小。

反应方程式: 草酸+O₂→2CO₂+H₂O₂(OXO催化)。

试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体60mL×1瓶	4℃保存	
试剂一	液体18mL×1瓶	4℃保存	
试剂二	粉体mg×1支	4℃保存	临用前甩几下使粉体落入底部, 每支加1.95mL的蒸馏水溶解备用, 可分装冻存。
试剂三	液体16mL×1瓶	4℃保存	
标准管	液体1mL×1支	4℃保存	

所需仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿(光径1cm)、天平、移液器、研钵、低温离心机。

草酸氧化酶 (OXO) 活性测定:

建议正式实验前选取2个样本做预测定, 了解本批样品和实验流程, 避免样本和试剂浪费!

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, 12000rpm,4℃ 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℃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。

2、上机检测:

①可见分光光度计预热30min, 设定波长到510nm, 蒸馏水调零。

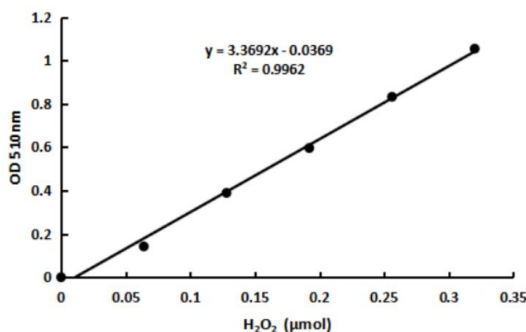
②所有试剂解冻至室温(25℃)。

③在1mL玻璃比色皿(光径1cm)中依次加入:

试剂名称(μL)	测定管
样本	160
试剂一	300
试剂二	30
试剂三	260
混匀, 于510nm下读取吸光值A1, 37℃孵育30min后读取吸光值A2, $\Delta A = A2 - A1$ 。	

结果计算:

1、标准曲线: $y = 3.3692x - 0.0369$; x 为 H_2O_2 标准品(μmol),y为 ΔA 。



2、按样本鲜重计算:

单位定义: 在37℃,每克组织每分钟生成1nmol的 H_2O_2 定义为一个酶活单位(U)。



$$\text{OXO}(\text{nmol}/\text{min}/\text{g 鲜重})=[(\Delta A+0.0369)\div 3.3692]\div (W\times V1\div V)\times 10^3\div T$$

$$=61.83\times (\Delta A+0.0369)\div W$$

3、按样本蛋白浓度计算:

单位定义: 在37℃,每毫克组织蛋白每分钟生成1nmol 的 H₂O₂定义为一个酶活单位(U)。

$$\text{OXO}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mg prot})=[(\Delta A+0.0369)\div 3.3692]\div (V1\times \text{Cpr})\times 10^3\div T$$

$$=61.83\times (\Delta A+0.0369)\div \text{Cpr}$$

4、按细胞/细菌数量计算:

单位定义: 在37℃,每10⁴个细胞/细菌每分钟生成1nmol 的 H₂O₂定为一个酶活单位(U)。

$$\text{OXO}(\text{nmol}/\text{min}/10^4\text{cell})=[(\Delta A+0.0369)\div 3.3692]\div (500\times V1\div V)\times 10^3\div T$$

$$=0.124\times (\Delta A+0.0369)$$

V---加入提取液体积, 1mL;

V1--- 加入样本体积, 0.16mL;

T--反应时间, 30min;

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。

附: 标准曲线制作过程:

1.制备标准品母液(250μmol/mL)。

2.把母液稀释成以下浓度: 0,0.4,0.8,1.2,1.6,2μmol/mL。也可根据实际调整浓度。

3.在 1mL 玻璃比色皿(光径1cm) 中直接加入: 160μL标准品+330 μL 试剂一+260μL 试剂三, 混匀, 37℃孵育30min 于510nm 处读值, 依据结果即可制作标准曲线。