

# 抗坏血酸过氧化物酶（APX）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1034

保存：4℃避光保存 12 个月

规格：48T/96T

适用样本：植物组织

## 产品简介

APX (EC. 1. 11. 1. 11) 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。本试剂盒提供了一种简便的比色测定法，用于测定样本中的 APX 活性。其原理是 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。

## 产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
试剂一	60mL	120mL	4℃保存
试剂二	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	4℃保存
试剂三	1. 5mL	3mL	4℃保存

## 自备耗材

酶标仪或紫外分光光度计（能测290nm处的吸光度）及水浴锅

96孔UV微孔板或微量石英比色皿、可调节式移液枪及枪头

制冰机、低温离心机

去离子水

匀浆器

## 试剂准备

试剂一：即用型；4℃保存。

试剂二：临用前 48T 加入 1.5mL 去离子水，96T 加入 3mL 去离子水充分溶解，现用现配。配制好的试剂二 4℃保存，并且 3 天内用完。

试剂三：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

## 样本制备

植物组织：称取约 0.1g 组织，加入 1mL 试剂一，冰浴匀浆。13,000g，4℃离心 20min，取上清液置冰上待测。

**注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用 BCA 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。**

## 实验步骤

1. 酶标仪或紫外分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 290nm，紫外分光光度计试剂三调零。
2. 试剂一在 25℃中预热 30min。
3. 样本测定：在 96 孔板或微量石英比色皿中加入 20  $\mu$ L 上清液、140  $\mu$ L 预热的试剂一、20  $\mu$ L 试剂二和 20  $\mu$ L 试剂三，迅速混匀后在 290nm 测定 1min 和 3min 光吸收  $A_1$  和  $A_2$ ， $\Delta A=A_1-A_2$ 。

## 产品说明书

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  $\Delta A$  小于 0.001 可适当加大样本量，如果  $\Delta A$  大于 0.5，样本可用提取液进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数。

### 结果计算

#### A. 使用 96 孔板测定的计算公式

##### 1. 按照样本质量计算

活性单位定义：每 g 组织在反应体系中每分钟氧化 1nmol AsA 为 1 个酶活单位。

$$\text{APX(U/g 鲜重)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 3571 \times \Delta A \div W$$

##### 2. 按样本蛋白浓度计算

活性单位定义：每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟氧化 1nmol AsA 为 1 个酶活单位。

$$\text{APX(U/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (Cpr \times V_{\text{样}}) \div T = 3571 \times \Delta A \div Cpr$$

$\epsilon$ ：AsA 在 290nm 处摩尔吸光系数为  $2.8 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$ ； $d$ ：96 孔板光径，0.5cm； $V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积， $200 \mu\text{L} = 2 \times 10^{-4} \text{ L}$ ； $10^9$ ： $1\text{mol} = 1 \times 10^9 \text{ nmol}$ ； $Cpr$ ：上清液蛋白质浓度，mg/mL； $W$ ：样本质量，g； $V_{\text{样}}$ ：加入反应体系中上清液体积，0.02mL； $V_{\text{样总}}$ ：提取液体积，1mL； $T$ ：催化反应时间，2min。

#### B. 使用微量比色皿测定的计算公式

将上述计算公式中的光径  $d$ ：0.5cm 调整为  $d$ ：1cm 进行计算即可。

### 注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

### 相关产品：

PMK1030 还原型抗坏血酸 (AsA) / 维生素 C 检测试剂盒 (微量法)

PMK1025 谷胱甘肽过氧化物酶 (GPX) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1225 锰过氧化物酶 (MnP) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1226 木质素过氧化物酶 (LiP) 检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解，请关注公众号：

