# 漆酶检测试剂盒（微量法）

**货号：**PMK1221

**保存：**4℃避光保存 12 个月

**规格：**48T/48S 96T/96S

**适用样本：**植物组织、真菌、细菌、发酵液等液体样本

## 产品简介

漆酶（CE1.10.3.2）是一种含铜的多酚氧化酶，属于铜蓝氧化酶家族，广泛分布于真菌和高等植物中，具有较强的氧化还原能力，在纸浆生物漂白，环境污染物降解和木质纤维素降解以及生物检测方面有非常广泛的应用。本试剂盒提供了一种简单、方便、快速的漆酶活性检测方法，其原理是漆酶分解底物 ABTS 产生 ABTS 自由基，在 405nm 处的吸光系数远大于底物 ABTS，测定 ABTS 自由基的增加速率，可计算得漆酶活性。

## 产品内容

| 试剂盒组分 | 规格 | | 储存条件 |
|---|---|---|---|
| | 48T | 96T | |
| 提取液 | 50mL | 100mL | 4℃保存 |
| 试剂一 | 10mL | 20mL | 4℃保存 |
| 试剂二 | 粉剂×1 瓶 | 粉剂×2 瓶 | 4℃避光保存 |

## 自备耗材

酶标仪或紫外分光光度计（能测405nm处的吸光度）及恒温箱
96孔板或微量玻璃比色皿、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（如果是组织样本）

## 试剂准备

提取液：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。
试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。
试剂二：使用时在每瓶试剂二中加入 10mL 试剂一充分溶解。配好后 24h 内用完，或将用不完的试剂分装后-20℃保存 4 周；避免反复冻融，若变色则不能使用。

## 样本制备

植物组织：称取 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆，10,000g,4℃ 离心 10min, 取上清液，置冰上待测。
细菌或真菌：先收集细菌或真菌到离心管内，离心后弃上清；按 500 万细菌或真菌加入 1mL 提取液的比例加入提取液，冰浴超声波破碎 5min（功率 20%或 200W, 超声 3s, 间隔 7s,重复 30 次），10,000g,4℃离心 10min,取上清液，置冰上待测。
发酵液等液体样本：直接检测。
**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 Bradford 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405nm, 紫外分光光度计去离子水调零。

2. 样本测定：在 96 孔板或微量石英比色皿中加入 30μL 样本和 170μL 试剂二，混匀，测定 405nm 处初始吸光值 $A_1$ 和 45℃孵育 5min 后的吸光值 $A_2$，计算 $\Delta A=A_2-A_1$。

**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ΔA 小于 0.001 可适当加大样本量，如果ΔA 大于 1.0，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.用96孔板测定的计算公式如下**

（1）按样本鲜重计算：

酶活力单位的定义：每g组织在反应体系中每分钟氧化1nmol底物ABTS定义为一个酶活力单位。

漆酶活性（U/g 鲜重）$=[\Delta A\times V_{反总}\div(\varepsilon\times d)\times10^9]\div(W\times V_{样}\div V_{样总})\div T=74.074\times\Delta A\div W$

（2）按样本蛋白浓度计算：

单位的定义：每mg组织蛋白在反应体系中每分钟氧化1nmol底物ABTS定义为一个酶活力单位。

漆酶活性（U/mg prot）$=[\Delta A\times V_{反总}\div(\varepsilon\times d)\times10^9]\div(V_{样}\times Cpr)\div T74.074\times\Delta A\div Cpr$

（3）按细菌或真菌细胞数量计算：

单位的定义：每1万个细菌或真菌在反应体系中每分钟氧化1nmol底物ABTS定义为一个酶活力单位。

漆酶活性（U/$10^4$ cell）$=[\Delta A\times V_{反总}\div(\varepsilon\times d)\times10^9]\div(500\times V_{样}\div V_{样总})\div T=0.148\times\Delta A$

（4）按液体体积计算：

单位的定义：每mL液体样本在反应体系中每分钟氧化1nmol底物ABTS定义为一个酶活力单位。

漆酶活性（U/mL）$=[\Delta A\times V_{反总}\div(\varepsilon\times d)\times10^9]\div V_{样}\div T=74.074\times\Delta A$

$V_{反总}$：反应体系总体积，$2\times10^{-4}$ L；ε：ABTS摩尔消光系数，$36\times10^3$ L/mol/cm；d：96孔板光径，0.5cm；$V_{样}$：加入样本体积，0.03mL；$V_{样总}$：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，5min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；500：细菌或细胞总数，500万。

**B.使用微量石英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：**

PMK1214 肉桂醇脱氢酶（CAD)检测试剂盒(微量法)
PMK1222 植酸酶检测试剂盒(微量法)
PMK1226 木质素过氧化物酶（LiP）检测试剂盒(微量法)
PMK1228 莽草酸脱氢酶（SD）检测试剂盒(微量法)

**更多产品详情了解，请关注公众号：**