

Ascorbate Peroxidase (APX) Assay Kit

抗坏血酸过氧化物酶（APX）试剂盒

产品编号	产品名称	规格
BL879A	抗坏血酸过氧化物酶（APX）试剂盒	48T

产品简介:

抗坏血酸过氧化物酶（APX）也称维生素 C 过氧化物酶，是植物细胞中防御外界氧化胁迫和植物本身活性氧代谢的重要抗氧化酶之一。 H_2O_2 是植物叶绿体中光合电子传递链和某些酶反应的天然产物，是具有毒害作用的活性氧，APX 在降低 H_2O_2 的关键酶，对植物细胞产生氧化损伤方面起关键作用。

抗坏血酸过氧化物酶（APX）首先与 H_2O_2 形成中间复合物，中间复合物接着氧化 AsA，因此 APX 与 AsA 具有一定的负相关性，通过测定 AsA 氧化速率，来计算 APX 酶活性。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	60mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	40mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二 A	粉末 ×2 瓶	4℃保存	临用前取一支试剂二 A（用前甩几下或离心使试剂落入试管底部），加入 0.5 mL 蒸馏水充分溶解（可多次加蒸馏水涮洗），全部转移至试剂二 B 空瓶中，然后再向试剂二 B 瓶中加入蒸馏水，使总体积为 3mL，混匀后做试剂二 Mix 备用。Mix 可-20℃分装保存（一个月），禁止反复冻融。解冻后可 4℃保存一周。
试剂二 B	空瓶 ×2 个		
试剂三	6mL×1 瓶	4℃保存	

使用方法:

建议正式实验前，选取 2 个样本做预测定，了解实验样品情况，熟悉流程，避免样本和试剂浪费！

一、样本准备:

- 称取约 0.1g 组织（水分充足的样本可取 0.5g），加入 1mL 提取液，在 4℃ 或冰浴进行匀浆；
- 12000rpm, 4℃离心 20min，取上清液待测。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例提取

二、样品测定:

- 紫外分光光度计预热 30 min，调节波长到 290nm，用蒸馏水调零。
- 剂一放 25℃水浴中预热 30min（如果实验室温度达到 25℃以上，可以静置 30min）。
- 在 1mL 石英比色皿（光径 1cm）中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管
样本	60
试剂一	740
试剂二 Mix	100

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
 注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。



试剂三	100
迅速混匀，在 290nm 测定 30 s 和 5min30 s 分别 读值 A，相应记为 A1 和 A2。 $\Delta A=A1-A2$ 。	

- 【注】1.若 ΔA 的值在零附近，可适当延长反应时间 T 到 10min30s 读取 A2，改变后的反应时间需代入计算公式重新计算。或适当加大样本量 V1（如由 60 μ L 增至 120 μ L，则试剂一相应减少），改变后的加样体积需代入计算公式重新计算。
- 2.若起始值 A 太大如超过 2（如颜色较深的植物叶片，一般色素较高，则起始值相对会偏高），可以适当减少样本加样量，则改变后的加样体积需代入计算公式重新计算。
- 3.若下降趋势不稳定，可以每隔 10S 读取一次吸光值，选取一段线性下降的时间段来参与计算，相对应的 A 值也代入计算公式重新计算。

三、含量计算

1. 按蛋白浓度计算

酶活定义：25°C条件下，每毫克蛋白每分钟氧化 1 μ mol AsA 为 1 个酶活单位。

$$\begin{aligned} \text{APX}(\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg prot}) &= \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^6 \div (\text{Cpr} \times V1) \div T \\ &= 1.19 \times \Delta A \div \text{Cpr} \end{aligned}$$

2. 按质量计算

酶活定义：25°C条件下，每克组织每分钟氧化 1 μ mol AsA 为 1 个酶活单位。

$$\begin{aligned} \text{APX}(\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g 鲜重}) &= \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^6 \div (W \times V1 \div V) \div T \\ &= 1.19 \times \Delta A \div W \end{aligned}$$

$$\Delta A = A1 - A2$$

ϵ ---AsA 在 290nm 处摩尔吸光系数为 $2.8 \times 10^3 \text{ L}/\text{mol}/\text{cm}$

V---加入提取液体积，1mL

V1---加入反应体系中上清液体积（mL），60 μ L=0.06mL

V2---反应体系总体积（L），1000 μ L=1 $\times 10^{-3}$ L

d---比色皿光径（cm），1 cm

10^6 ---1mol=1 $\times 10^6$ μ mol

W---样本质量，g

T---催化反应时间（min），5min

Cpr---上清液蛋白质浓度（mg/mL）

注意事项:

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期:

4°C保存三个月。

