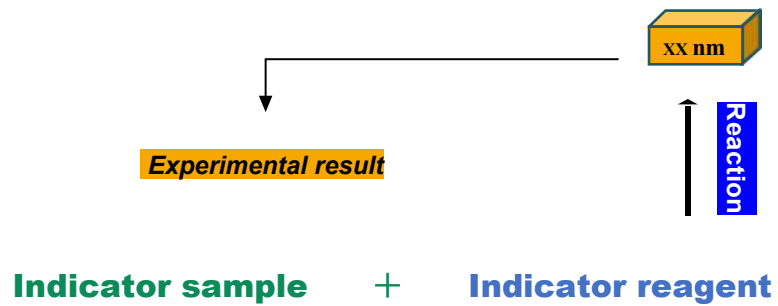


上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co.,Ltd.



生化检测原理示意图

木质素过氧化物酶 (LiP) 检测试剂盒说明书

微量法

注意：正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。

测定意义：

木质素过氧化物酶 (EC1.11.1.14) 是一种含亚铁血红素的过氧化物酶，属于木质素降解酶系，在木质素生物降解、造纸工业、纺织工业、芳香化合物转化与降解及环境污染控制等方面具有较大的应用潜力。

测定原理：

木质素过氧化物酶氧化藜芦醇生成藜芦醛，在 310nm 处有特征吸收峰。

自备实验用品及仪器

天平、研钵、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 (UV 板)。

产品内容：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体 115mL×1 瓶	4℃保存	-
试剂二	液体 4mL×1 瓶	4℃避光保存	-
试剂三	液体 2mL×1 支	4℃保存	-

酶液提取

1. 组织：按照质量 (g)：试剂一体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g，加入 1mL 试剂一) 加入试剂一，冰浴匀浆后于 4℃，10000g 离心 10min，取上清置于冰上待测。
2. 细胞：按照细胞数量 (10⁴个)：试剂一体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细胞加入 1mL 试剂一)，冰浴超声波破碎细胞 (功率 300w，超声 3 秒，间隔 7 秒，总时间 3min)；然后 4℃，10000g 离心 10min，取上清置于冰上待测。
3. 培养液或其它液体：直接检测。

测定操作

	测定管
试剂一 (μL)	120
试剂二 (μL)	40
样品 (μL)	20
试剂三 (μL)	20

充分混匀，于微量石英比色皿/96 孔板，蒸馏水调零，测定 310nm 处 10s 和 310s 吸光值，记为 A1 和 A2， $\Delta A = A2 - A1$

酶活计算公式

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

1. 按照蛋白浓度计算

酶活性定义：每毫克蛋白每分钟氧化1nmol藜芦醇所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{LiP 活性 (nmol/min/mg prot)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 215 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

2. 按照样本质量计算

酶活性定义：每克样品每分钟氧化1nmol藜芦醇所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{LiP 活性 (nmol/min/g)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times W \div V_{\text{样总}}) \div T = 215 \times \Delta A \div W$$

3. 按照细胞数量计算

酶活性定义：每 10^4 个细胞每分钟氧化1nmol藜芦醇所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{LiP 活性 (nmol/min/10}^4\text{cell)} &= \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{细胞数量} \div V_{\text{样总}}) \div T \\ &= 215 \times \Delta A \div \text{细胞数量} \end{aligned}$$

4. 按照液体体积计算

酶活性定义：每升培养液每分钟氧化1nmol藜芦醇所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{LiP 活性 (nmol/min/L)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 2.15 \times 10^5 \times \Delta A$$

ϵ ：藜芦醛摩尔消光系数：9300L/mol/cm；d：比色皿光径，1cm； $V_{\text{反总}}$ ：反应总体积，1mL；

$V_{\text{样}}$ ：反应中样本体积，0.1mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL； C_{pr} ：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；T：反应时间，5min

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

1. 按照蛋白浓度计算

酶活性定义：每毫克蛋白每分钟氧化1nmol藜芦醇所需的酶量为一个酶活力单位 (U)。

$$\text{LiP 活性 (U/mg prot)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 430 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

2. 按照样本质量计算

酶活性定义：每克样品每分钟氧化1nmol藜芦醇所需的酶量为一个酶活力单位 (U)。

$$\text{LiP 活性 (U/g)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times W \div V_{\text{样总}}) \div T = 430 \times \Delta A \div W$$

3. 按照细胞数量计算

酶活性定义：每 10^4 个细胞每分钟氧化1nmol藜芦醇所需的酶量为一个酶活力单位 (U)。

$$\begin{aligned} \text{LiP 活性 (U/10}^4\text{cell)} &= \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{细胞数量} \div V_{\text{样总}}) \div T \\ &= 430 \times \Delta A \div \text{细胞数量} \end{aligned}$$

4. 按照液体体积计算

酶活性定义：每升培养液每分钟氧化1nmol藜芦醇所需的酶量为一个酶活力单位 (U)。

$$\text{LiP 活性 (U/L)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 4.3 \times 10^5 \times \Delta A$$

ϵ ：藜芦醛摩尔消光系数：9300L/mol/cm；d：比色皿光径，0.5cm； $V_{\text{反总}}$ ：反应总体积，1mL； $V_{\text{样}}$ ：反应中样本体积，0.1mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL； C_{pr} ：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；

T：反应时间，5min