

上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0810

Size: 50T/48S

木质素过氧化物酶 (LiP) 检测试剂盒说明书

紫外分光光度法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、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。

二、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。

三、需自备的仪器和用品:

天平、研钵、低温离心机、紫外分光光度计、1mL 石英比色皿。

四、试剂的组成和配置:

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体 80mL × 1 瓶	4℃保存	
试剂二	液体 10mL × 1 瓶	4℃避光保存	
试剂三	液体 5mL × 1 瓶	4℃保存	

五、操作步骤：

● 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（mL）	0.6
试剂二（mL）	0.2
样品（mL）	0.1
试剂三（mL）	0.1
充分混匀，于1mL石英比色皿，蒸馏水调零，测定310nm处10s和310s吸光值，记为A1和A2， $\Delta A = A2 - A1$	

六、酶活计算公式

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。

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

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；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；T：反应时间，5min。