



抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 活性检测试剂盒

Ascorbate Peroxidase (APX) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



抗坏血酸过氧化物酶（APX）活性检测试剂盒

Ascorbate Peroxidase (APX) Activity Assay Kit

一、产品描述

抗坏血酸过氧化物酶（APX）是以抗坏血酸为电子供体的专一性过氧化物酶，其活性对体内抗坏血酸的含量具有直接影响，并且作为植物活性氧代谢中重要的抗氧化酶之一，可清除体内积累的 H_2O_2 ，保护叶绿体和其它细胞组分免受 H_2O_2 及其所产生的羟基自由基的破坏，从而提高植物对氧化胁迫的耐受性，在植物生长发育和逆境胁迫响应等生理过程中发挥着重要作用。

抗坏血酸过氧化物酶可催化 H_2O_2 氧化抗坏血酸生成单脱氢抗坏血酸（Monodehydroascorbate），通过测定抗坏血酸的氧化速率即可表征抗坏血酸过氧化物酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体 120 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂二	粉剂×2 瓶	4°C避光保存	使用前加入 3 mL 蒸馏水充分溶解 (配置后未使用完试剂 4°C可保存 3 天)
试剂三	液体 3 mL×1 瓶	4°C避光保存	-

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器：紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔 UV 板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1.粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

按照组织质量（g）：试剂一体积（mL）为 1：（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 试剂一）处理样品，冰浴匀浆，4°C 13000 g 离心 20 min，取上清即为粗酶液，置于冰上待测。

2.测定步骤

- ①紫外分光光度计/酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 290 nm，蒸馏水调零。
- ②试验前将试剂一 25℃预热 30 min。
- ③在微量石英比色皿/96 孔 UV 板中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	空白组 (μL)
粗酶液	20	-
蒸馏水	-	20
试剂一	140	140
试剂二	20	20
试剂三	20	20

吸光值测定：①迅速混匀并开始计时，测定 10 s（总时间）时 290 nm 处吸光值，记为 A1 测定和 A1 空白；②准确反应 120 s 后，测定 130 s（总时间）时 290 nm 处吸光值，记为 A2 测定和 A2 空白；③计算 ΔA 测定=A1 测定-A2 测定， ΔA 空白=A1 空白-A2 空白， $\Delta A = \Delta A$ 测定- ΔA 空白。注：空白组只需测定 1-2 次。

3.抗坏血酸过氧化物酶（APX）活性计算

3.1 使用微量石英比色皿进行测定的计算公式

①按样本蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 蛋白每分钟氧化 1 μmol 抗坏血酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{APX (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^6}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{1.786 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按样本质量计算

单位定义：每 g 样品每分钟氧化 1 μmol 抗坏血酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{APX (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^6}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{1.786 \times \Delta A}{W}$$

注释： V 反总：反应体系总体积，200 μL=2×10⁻⁴ L； V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，20 μL=0.02 mL； V 样总：粗酶液总体积，1 mL； ε：抗坏血酸在 290 nm 处摩尔吸光系数为 2.8×10³ L/mol/cm； d：微量石英比色皿光径，1 cm； 10⁶：单位换算系数，1 mol=1×10⁶ μmol； Cpr：粗酶液蛋白浓度，mg/mL； W：样本质量，g； T：反应时间，120 s=2 min。

3.2 使用 96 孔 UV 板进行测定的计算公式

①按样本蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 蛋白每分钟氧化 1 μmol 抗坏血酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{APX (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^6}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{3.57 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按样本质量计算

单位定义：每 g 样品每分钟氧化 1 μmol 抗坏血酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{APX (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^6}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{3.57 \times \Delta A}{W}$$

注释： V 反总：反应体系总体积，200 μL = 2×10^{-4} L；V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，20 μL = 0.02 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL； ϵ ：抗坏血酸在 290 nm 处摩尔吸光系数为 2.8×10^3 L/mol/cm；d：96 孔 UV 板光径，0.5 cm； 10^6 ：单位换算系数，1 mol = 1×10^6 μmol ；Cpr：粗酶液蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；T：反应时间，120 s = 2 min。

四、注意事项

①准确在 10 s 和 130 s 处完成读数，以保证实验结果的准确性；若使用 96 孔 UV 板进行测定，应使用多道移液器分批进行测定，以确保组间反应时间一致；

②为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Liaodong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

