

## 植物抗坏血酸过氧化物酶（APX）检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PMHA3-C24	抗坏血酸过氧化物酶	24T	常量法
PMHA3-C48	(APX)试剂盒	48T	常量法

### 一、测定意义：

抗坏血酸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类，尤其是叶绿体中清除过氧化氢的关键酶，又是维生素C代谢的主要酶类。

### 二、测定原理：

抗坏血酸过氧化物酶（APX）催化抗坏血酸（ASA）与过氧化氢（H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>）反应，使ASA氧化成单脱氢抗坏血酸（MDASA）。通过测定抗坏血酸（ASA）在290nm波长下的吸光度值（A<sub>290</sub>）下降，根据单位时间内A<sub>290</sub>减少值，计算抗坏血酸过氧化物酶（APX）活性。

### 三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量（24T）	试剂装量（48T）	保存条件
提取液	液体 30mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 40mL×1 瓶	液体 80mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8℃保存
<b>试剂二配制：</b> 临用前一瓶加入 10mL 蒸馏水充分溶解，现有现配。			
试剂三	6mL×1 瓶	12mL×1 瓶	2-8℃保存

### 四、操作步骤：

#### 样本前处理

植物组织提取液的制备：取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1: 5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液），旋涡混匀抽提 3-5 分钟或者使用组织破碎仪冰浴提取，8000g, 4℃离心 10min，取上清液置冰上待测。

#### 测定步骤

1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 290nm，用蒸馏水调零。

2、试剂回复至常温；

3、操作表：

试剂	空白管	测定管
双蒸水（μL）	100	-
样本（μL）	-	100
试剂一（μL）	700	700
试剂二（μL）	100	100
试剂三（μL）	100	100

迅速混匀，双蒸水调零，波长 290nm，1cm 光径石英比色皿，室温下（25℃），分别测定 10s 和 130s 吸光度值 A<sub>1 测定</sub>，A<sub>1 空白</sub>，A<sub>2 测定</sub> 和 A<sub>2 空白</sub>，计算  $\Delta A_{\text{测定}} = A_{1 \text{ 测定}} - A_{2 \text{ 测定}}$ ， $\Delta A_{\text{空白}} = A_{1 \text{ 空白}} - A_{2 \text{ 空白}}$ ， $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。

#### 五、植物样本中抗坏血酸过氧化物酶计算：

1、按样本蛋白浓度计算

**单位定义：**每毫克蛋白每分钟氧化 1μmol ASA 为 1 个酶活单位。

**计算公式：** APX(U/mg prot) =  $\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^6 \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T$   
 $= 1.79 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$

2、按样本质量计算

**单位定义：**每 g 组织每分钟氧化 1μmol ASA 为 1 个酶活单位。

**计算公式：** APX(U/g) =  $\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_{\text{反总}} \times 10^6 \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{总}}) \div T$   
 $= 1.79 \times \Delta A \div W$

$\epsilon$ : ASA 在 290nm 处摩尔吸光系数，2.8×10<sup>3</sup>L/mol/cm；d: 比色皿光径，1cm；V<sub>反总</sub>: 反应体系总体积，1000μL=1×10<sup>-3</sup>L；10<sup>6</sup>: 单位

换算系数， $1\text{mol}=1\times 10^6 \mu\text{mol}$ ；W，样本质量，g；Cpr：上清液蛋白浓度。

蛋白浓度(mg/mL)；V<sub>样</sub>:加入反应体系中上清液体积,  $100\mu\text{L}=0.1\text{mL}$ ；

T: 催化反应时间(min)，2min。

#### 六、注意事项：

1、实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

2、 $\Delta A_{\text{测定}}$ 若是高于0.3或者反应液中有较多气泡产生，可将样本用提取液进行稀释。计算时乘以相应的稀释倍数即可。

3、仪器读数一直跳动时，需等稳定后才能准确记录相关数据。

#### 【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园A6栋2层

#### 【售后微信】



#### 【说明书核准及修改日期】

核准日期：2025年4月7日

修改日期：2025年4月7日