

木质素过氧化物酶（Lip）活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PMHC3-M48	木质素过氧化物酶(Lip)活	48T	微量法
PMHC3-M96	性检测试剂盒	96T	

一、测定意义：

木质素过氧化物酶（Lip）是一系列含 Fe^{3+} 、卟啉环和血红素辅基的同工酶，是木质素生物降解过程中的主要降解酶，能够在木素聚合物内形成自由基，导致键稳定变差从而破坏木质素大分子，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重要应用。

二、测定原理：

木质素过氧化物酶能够氧化藜芦醇生成藜芦醛，产物在 310 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征木质素过氧化物酶的活性。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(48T)	试剂装量(96T)	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 110mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 20mL×1 瓶	液体 25mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 0.1mL×1 瓶	液体 0.1mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二的配制：临用前用试剂一稀释 100 倍后使用。			
试剂三	液体 1.5 mL×1 瓶	液体 3 mL×1 瓶	2-8℃保存

四、操作步骤：

样本前处理

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，置冰上待测。

测定步骤

1. 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 310nm，蒸馏水调零。。

2. 操作表（在 96 孔 UV 板中加入下列试剂）：

试剂名称	测定管
样本（ μL ）	20
试剂一（ μL ）	120
试剂二（ μL ）	40
试剂三（ μL ）	20
充分混匀并立即开始计时，测定 10 s（总时间）时 310 nm 处吸光值，记为 A_1 ；准确反应 5min，测定 5min10 s（总时间）时 310 nm 处吸光值，记为 A_2 ；计算 $\Delta A = A_2 - A_1$ 。	

五、木质素过氧化物酶(Lip)活性计算：

1、按样本鲜重计算：

单位定义：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。

计算公式： $\text{Lip (U/g)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div \epsilon \div d \times 10^9 \div (V_{\text{样}} \times W \div V_{\text{样总}}) \div T = 358.42 \times \Delta A \div W$

2、按样本蛋白浓度计算：

单位定义：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。

计算公式： $\text{Lip (U/mg prot)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div \epsilon \div d \times 10^9 \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = 358.42 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$

ϵ : 藜芦醛摩尔消光系数: 9300L/mol/cm; d : 96 孔 UV 板光径, 0.6cm;

$V_{\text{反应}}$: 反应总体积, $2 \times 10^{-4}\text{L}$; $V_{\text{样}}$: 反应中样本体积, 0.02mL; $V_{\text{样总}}$:

加入提取液体积, 1mL; C_{pr} : 样本蛋白浓度, mg/mL, 蛋白浓度需自行测定; W , 样本质量, g; T : 反应时间, 5min; 10^9 : 单位换算系数, $1\text{mol} = 10^9\text{nmol}$ 。

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、若样本数太多可将试剂一，试剂二，试剂三按照 6：2：1 比例配制成工作液预热后使用，工作液需临用前配制，并且尽快使用。
- 3、测定之前进行预实验，若吸光值较高，请将样品用提取液进行适当的稀释再测定，并在计算公式中乘以稀释倍数。

【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