

## 漆酶（Lac）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
PMHC4-M48	漆酶(Lac)活性检测试剂盒	48T	微量法
PMHC4-M96		96T	

### 一、测定意义：

漆酶是一种含铜的多酚氧化酶，属于铜蓝氧化酶家族，广泛分布于真菌和高等植物中，具有较强的氧化还原能力，在纸浆生物漂白，环境污染降解和木质纤维素降解以及生物检测方面有非常广泛的应用。

### 二、测定原理：

漆酶分解底物 ABTS 产生 ABTS 自由基，在 420nm 处的吸光系数远大于底物 ABTS，测定 ABTS 自由基的增加速率，可计算得漆酶活性。

### 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 60 mL×1 瓶	液体 110 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 18 mL×1 瓶	液体 36 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×2 瓶	2-8℃保存
<b>工作液的配制：</b> 临用前取 1 瓶试剂二粉剂加入试剂一 18mL 充分溶解，现用现配。			

### 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 420nm，蒸馏水调零。。

2.操作表（在 96 孔板中加入下列试剂）：

试剂名称	测定管	空白管
样本（μL）	40	-
蒸馏水（μL）	-	40
工作液（μL）	160	160
充分混匀后立即于 420nm 处测定吸光值，记为 A1，后于 45℃水浴锅或 45℃恒温培养箱准确反应 10min，于 420nm 测定其吸光值，记为 A2，计算 $\Delta A_{\text{测定}}=A2_{\text{测定}}-A1_{\text{测定}}$ ， $\Delta A_{\text{空白}}=A2_{\text{空白}}-A1_{\text{空白}}$		
空白°		

### 五、漆酶(Lac)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 底物 ABTS 所需的酶量为一个酶活力单位。

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

$$= 23.125 \times \Delta A \div W$$

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 底物 ABTS 所需的酶量为一个酶活力单位。

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

$$= 23.125 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

$\epsilon$ ：ABTS 摩尔消光系数：36000L/mol/cm；d：96 孔板光径，0.6cm；

$V_{\text{反应}}$ ：反应总体积， $2 \times 10^{-4}$ L； $V_{\text{样}}$ ：反应中样本体积，0.04mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL； $C_{\text{pr}}$ ：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，10min； $10^9$ ：单位换算系数，1mol=10<sup>9</sup>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、工作液需临用前配制，并且尽快使用，4℃保存一周，若变色则不能使用。
- 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。
- 4、空白管为检测各试剂组分质量的检测孔，正常情况下，OD 值变化不超过 0.1。

**【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