



木质素过氧化物酶 (LIP) 活性检测试剂盒

Lignin Peroxidase (LIP) Activity Assay Kit



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



木质素过氧化物酶（LIP）活性检测试剂盒

Lignin Peroxidase (LIP) Activity Assay Kit

一、产品描述

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。

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。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件
试剂一	液体 130 mL×1 瓶	4°C保存
试剂二	液体 5 mL×1 瓶	4°C避光保存
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和试剂：紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿（光径 10 mm）/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）

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 0.1 g 组织，加入 1 mL 试剂一）处理样品，冰浴匀浆，4°C 10000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞到离心管内，按照细菌或细胞数量（ 10^4 个）：试剂一体积（mL）为（500-1000）：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 试剂一）处理样品，冰浴超声破碎（功率 300 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 3 min），4°C 10000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③培养液等液体样本：直接检测或适当稀释后再进行检测。

2. 测定步骤

①紫外分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 310 nm，蒸馏水调零。

②在 96 孔 UV 板或微量石英比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)
试剂一	120
试剂二	40
粗酶液	20
试剂三	20

吸光值测定：①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 A1；

②准确反应 300 s，测定 310 s（总时间）时 310 nm 处吸光值，记为 A2；③计算 $\Delta A = A2 - A1$ 。

3. 木质素过氧化物酶（LIP）活性计算

3.1 使用 96 孔 UV 板测定的计算公式

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟氧化 1 nmol 藜芦醇所需的酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{LIP (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{430 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟氧化 1 nmol 藜芦醇所需的酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{LIP (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{430 \times \Delta A}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每分钟氧化 1 nmol 藜芦醇所需的酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{LIP (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{430 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟氧化 1 nmol 藜芦醇所需的酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{LIP (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_1 \times V_{\text{样}} \times T} = 430 \times \Delta A$$

3.2 使用微量石英比色皿测定的计算公式

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟氧化 1 nmol 藜芦醇所需的酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{LIP (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{215 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟氧化 1 nmol 藜芦醇所需的酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{LIP (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{215 \times \Delta A}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每分钟氧化 1 nmol 藜芦醇所需的酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{LIP (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times \text{细菌或细胞数量} \times T} = \frac{215 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟氧化 1 nmol 藜芦醇所需的酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{LIP (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^9}{\epsilon \times d_2 \times V_{\text{样}} \times T} = 215 \times \Delta A$$

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.02 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积， 2×10^{-4} L； ϵ ：藜芦醛摩尔消光系数：9300 L/mol/cm； d_1 ：96 孔 UV 板光径，0.5 cm； d_2 ：微量石英比色皿光径，1 cm；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；T：反应时间，300 s=5 min； 10^9 ：单位换算系数，1 mol= 10^9 nmol。

四、注意事项

①准确在 10 s 和 310 s 处完成吸光值测定，以确保结果准确性和重复性；若使用 96 孔 UV 板测定应使用多道移液器且分批进行检测，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.

