



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 80 mL×2 瓶	4°C 保存	-
试剂二	粉剂×2 瓶	4°C 避光保存	使用前每瓶加入 3 mL 蒸馏水充分溶解 (配制后 4°C 可保存 3 天)
试剂三	液体 40 $\mu$ L×1 支	4°C 避光保存	按照试剂三:蒸馏水=1:99 的体积比配制 (根据使用量现用现配, 配制后 4°C 可保存 2 周)

#### 三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 酶标仪、96 孔 UV 板、研钵/匀浆器、可调式移液器、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品量及比例)

①组织: 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 12000 g 离心 20 min, 取上清液置于冰上待测。

②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酶标仪预热 30 min 以上, 调节波长至 290 nm。

②试验前将试剂一置于 25°C 预热 30 min 以上。

③在 96 孔 UV 板中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 ( $\mu\text{L}$ )	空白组 ( $\mu\text{L}$ )
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充分混匀并立即开始计时，测定 10 s（总时间）时 290 nm 处吸光值，记为 A1 测定和 A1 空白；②室温准确反应 120 s，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  $\Delta A$  测定 = A1 测定 - A2 测定， $\Delta A$  空白 = A1 空白 - A2 空白， $\Delta A = \Delta A$  测定 -  $\Delta A$  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

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  $\mu\text{mol}$  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按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟氧化 1  $\mu\text{mol}$  抗坏血酸定义为一个酶活力单位。

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

③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  $\mu\text{mol}$  抗坏血酸定义为一个酶活力单位。

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

**注释：** V 反总：反应体系总体积，200  $\mu\text{L} = 2 \times 10^{-4}$  L；V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，20  $\mu\text{L} = 0.02$  mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL； $\epsilon$ ：抗坏血酸摩尔吸光系数  $2.8 \times 10^3$  L/mol/cm；d：96 孔 UV 板光径，0.5 cm； $10^6$ ：单位换算系数，1 mol =  $1 \times 10^6$   $\mu\text{mol}$ ；Cpr：粗酶液蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；T：酶促反应时间，2 min。

#### 四、注意事项

①若  $\Delta A$  大于 1.2，建议将粗酶液使用试剂一适当稀释后再进行测定；若  $\Delta A$  小于 0.05，建议适当延长酶促反应时间（准确反应 120 s，可以延长至 5 min 以上）或制备更高浓度的样本后再进行测定，计算时相应修改；

②准确在规定时间点完成吸光值测定，以确保检测结果的准确性和重复性；若同时测定多个样本时，应使用多道移液器且分批进行测定，以确保组间反应时间一致；

③粗酶液应置于冰上待测，建议提取完成后当天完成活性检测；

④试剂二配制后有效期短，为便于试验安排，附赠一瓶试剂二作为备用，每瓶均可完成至少 100 个样本的检测；

⑤若吸光值超过 3，建议检查 96 孔板是否为 96 孔 UV 板，96 孔板会因材质问题造成吸光值超出设备量程；

⑥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.  
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

