



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 130 mL×1 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 6 mL 蒸馏水充分溶解 (配制后 4°C 可保存 3 天)
试剂三	液体 80 μ 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：紫外分光光度计、1 mL 石英比色皿（光径 10 mm、狭缝 3 mm、体积 1.05 mL）、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分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 290 nm，蒸馏水调零。

②试验前将试剂一置于 25℃预热 30 min 以上。

③在 1 mL 石英比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	空白组 (μL)
粗酶液	100	-
蒸馏水	-	100
试剂一	700	700
试剂二	100	100
试剂三	100	100

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 $\Delta A_{\text{测定}} = A1_{\text{测定}} - A2_{\text{测定}}$ ， $\Delta A_{\text{空白}} = A1_{\text{空白}} - A2_{\text{空白}}$ ， $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。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 μmol 抗坏血酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{APX (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^6}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times \text{Cpr} \times T} = \frac{1.79 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟氧化 1 μmol 抗坏血酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{APX (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}} \times 10^6}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times W \times T} = \frac{1.79 \times \Delta A}{W}$$

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 μmol 抗坏血酸定义为一个酶活力单位。

$$\text{APX (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times 10^6}{\epsilon \times d \times V_{\text{样}} \times T} = 1.79 \times \Delta A$$

注释：V 反总：反应体系总体积，1000 μL=1×10⁻³ L；V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，100 μL=0.1 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；ε：抗坏血酸摩尔吸光系数 2.8×10³ L/mol/cm；d：1 mL 石英比色皿光径，1 cm；10⁶：单位换算系数，1 mol=1×10⁶ μmol；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 ΔA 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 ΔA 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；

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 50 个样本的检测；

⑤若吸光值超过 3，建议检查比色皿是否为石英比色皿（Q），玻璃比色皿（G）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.

