



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<sub>2</sub>O<sub>2</sub>，保护叶绿体和其它细胞组分免受 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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 μL×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°C 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	空白组
	( $\mu$ L)	( $\mu$ L)
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  $\Delta A$  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  $\mu$ mol 抗坏血酸定义为一个酶活力单位。

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

②按组织样本质量计算

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

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

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  $\mu$ mol 抗坏血酸定义为一个酶活力单位。

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

**注释：**  $V_{\text{反总}}$ ：反应体系总体积， $1000 \mu\text{L} = 1 \times 10^{-3} \text{ L}$ ； $V_{\text{样}}$ ：反应体系中加入粗酶液的体积， $100 \mu\text{L} = 0.1 \text{ mL}$ ； $V_{\text{样总}}$ ：粗酶液总体积， $1 \text{ mL}$ ； $\epsilon$ ：抗坏血酸摩尔吸光系数  $2.8 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$ ； $d$ ： $1 \text{ mL}$  石英比色皿光径， $1 \text{ cm}$ ； $10^6$ ：单位换算系数， $1 \text{ mol} = 1 \times 10^6 \mu\text{mol}$ ； $C_{\text{pr}}$ ：粗酶液蛋白浓度， $\text{mg/mL}$ ； $W$ ：样本质量， $\text{g}$ ； $T$ ：酶促反应时间， $2 \text{ min}$ 。

#### 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；

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](mailto:techsupport@boxbio.cn)

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

