

木质素过氧化物酶 (Lip) 检测试剂盒

微量法 100T/96S

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

测定意义：

木质素过氧化物酶 (EC1.11.1.14) 是一种含亚铁血红素的过氧化物酶，属于木质素降解酶系，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较大的应用潜力。

测定原理：

木质素过氧化物酶催化天青脱甲基，在 651nm 处测定吸光值减少。

试剂组成和配制：

产品名称	OT033-100T/96S	Storage
试剂一：粉剂	1 瓶	4°C
试剂二：液体	5ml	4°C避光
试剂三：液体	5ml	4°C
说明书	一份	

试剂一：粉剂×1 瓶，4°C保存。临用前加入 115ml 蒸馏水，充分溶解待用，用不完的试剂 4°C保存一个月。

需自备仪器和用品：

天平、研钵、低温离心机、酶标仪、96 孔板、可调式移液器、冰。

酶液提取：

- 1、组织：按照质量 (g)：试剂一体积(ml)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g，加入 1ml 试剂一）加入试剂一，冰浴匀浆后于 4°C，10000g 离心 10min，取上清置于冰上待测。
- 2、细胞：按照细胞数量 (10⁴ 个)：试剂一体积 (ml) 为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细胞加入 1ml 试剂一），冰浴超声波破碎细胞（功率 300w，超声 3 秒，间隔 7 秒，总时间 3min）；然后 4°C，10000g 离心 10min，取上清置于冰上待测。
- 3、培养液或其它液体：直接检测。

测定步骤：

- 1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 651nm，蒸馏水调零。
- 2、临用前按每个样本试剂一：试剂二：试剂三=80:40:40 (μl) 的比例配制工作液，现配现用。

最终解释权所有 © 伊势久 (江苏连云港) 生物科技有限责任公司，保留一切权利



3、在 96 孔板中依次加入如下试剂

	测定管
样品 (μl)	40
工作液 (μl)	160

充分混匀，立即测定 651nm 处 10s 和 130s 吸光值，记为 A1 和 A2， $\Delta A = A1 - A2$

酶活计算公式：

1. 按照蛋白浓度计算

酶活性定义：每 mg 组织蛋白在每 ml 反应体系中每分钟 A651 变化 0.01 为一个酶活力单位。

$$\text{LiP 活性 (U/mg prot)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div 0.01 \div T = 250 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

2. 按照样本质量计算

酶活性定义：每 g 组织在每 ml 反应体系中每分钟 A651 变化 0.01 为一个酶活力单位。

$$\text{LiP 活性 (U/g 鲜重)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 0.01 \div T = 250 \times \Delta A \div W$$

3. 按照细胞数量计算

酶活性定义：每 1 万个细菌或细胞在每 ml 反应体系中每分钟 A651 变化 0.01 为一个酶活力单位。

$$\text{LiP 活性 (U/10^4 cell)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 0.01 \div T = 0.5 \times \Delta A$$

4. 按照液体体积计算

酶活性定义：每 ml 血清（浆）在每 ml 反应体系中每分钟 A651 变化 0.01 为一个酶活力单位。

$$\text{LiP 活性 (U/ml)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div 0.01 \div T = 250 \times \Delta A$$

V 反总：反应总体积，0.2ml；V 样：反应中样本体积，0.04ml；V 样总：加入提取液体积，1ml；Cpr：样本蛋白浓度，mg/ml；W：样本质量，g；T：反应时间，2min

