

CheKine™ 抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 活性检测试剂盒 (微量法)

货号: KTB3091

规格: 48 T/48 S

96 T/96 S

批号: 见产品标签

	适用样本: 植物组织
	保质期: 4℃, 避光保存 6 个月

01 背景与原理

抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 是植物清除活性氧的重要抗氧化酶之一, 也是抗坏血酸代谢的关键酶之一。APX 具有多种同工酶, 分别定位于叶绿体、胞质、线粒体、过氧化物和乙醛酸体, 以及过氧化体和类囊体膜上。APX 催化 H_2O_2 氧化 AsA, 是植物 AsA 的主要消耗者。APX 的活性直接影响到 AsA 的含量, APX 与 AsA 具有一定的负相关性。

本试剂盒检测原理是 APX 催化 H_2O_2 氧化 AsA, 通过测定 AsA 氧化速率, 来计算 APX 的活性。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Reagent I	70 mL	70 mL×2	4℃
Reagent II	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃, 避光保存
Reagent III	15 μ L	30 μ L	4℃, 避光保存

*请在实验前检查各组分的量。

*各组分在规格基础上额外提供 10% 的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 290 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	UV 板
试剂	去离子水	配制试剂用
其他	匀浆器 (组织样本)、超声破碎仪、恒温箱、冰盒、低温离心机、可调节式移液枪及枪头	检测用

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。
- 对于组织样本及细胞样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）。
- 因是根据反应速率计算酶活，为保证每个样本的反应时间尽量一致，不推荐同时检测过多样本。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

05-1-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Reagent I	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Working Reagent II	临用前配制；48 T 加 1.5 mL 去离子水，96 T 加 3 mL 去离子水，充分溶解待用	3 天内使用完，4℃避光保存
Working Reagent III	临用前配制；按照去离子水：Reagent III=1000：1 的比例配制	现配现用；4℃避光保存

05-2 样本制备

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。

- 植物组织：称取约 0.1 g 植物组织样本，加入 1 mL Reagent I 捣碎，冰浴超声波破碎 5 min（功率 20% 或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），然后 13000 g，4℃离心 20 min，取上清液，置冰上待测。

05-3 实验步骤

1. 酶标仪准备：预热 30 min 以上，调节波长到 290 nm。
2. Reagent I 置于 25℃孵育 30 min 以上。
3. 检测体系配制：在 96 孔 UV 板中依次加入 20 μL 样本、140 μL Reagent I、20 μL Working Reagent II 和 20 μL Working Reagent III，迅速混匀。
4. 吸光度检测：测定 290 nm 处 10 s 时的吸光值 A_1 和 2 min 10 s 后的吸光值 A_2 。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网[\[https://www.abbkine.cn\]](https://www.abbkine.cn)>进入“技术中心”>查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算 $\Delta A = A_1 - A_2$ 。

2. 样本 APX 活性计算

● 按样本质量计算

单位的定义：每 g 组织在反应体系中每分钟消耗 1 nmol 的 AsA 定义为一个酶活力单位。

$$\text{APX (U/g)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 3571.43 \times \Delta A \div W$$

● 按蛋白浓度数量计算

单位的定义：每 mg 组织蛋白在反应体系中每分钟消耗 1 nmol 的 AsA 定义为一个酶活力单位。

$$\text{APX (U/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div T = 3571.43 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

$V_{\text{反总}}$ ：反应体系总体积， 2×10^{-4} L； ϵ ：AsA 摩尔消光系数， 2.8×10^3 L/mol/cm； d ：96 孔 UV 板光径，0.5 cm； 10^9 ：1 mol = 1×10^9 nmol； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.02 mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入 Reagent I 体积，1 mL； T ：反应时间，2 min； Cpr ：样本蛋白质浓度，mg/mL； W ：样品质量，g。

07 结果展示

示例-1：取 0.1 g 拟南芥，按照测定步骤操作，用 96 孔 UV 板进行检测。测得 $\Delta A = A_1 - A_2 = 1.225 - 1.164 = 0.06$ ，按样本质量计算得： $\text{APX (U/g)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 3571.43 \times \Delta A \div W = 2142.86$ U/g。

08 FAQ

● 检测得到的样本 ΔA 过高或者过低怎么办？

如果样本 $\Delta A > 1$ ，可用 Reagent I 适当稀释或减少提取用样本量，重新进行测定。如果样本的 $\Delta A < 0.001$ ，可提高样本量。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB1110	CheKine™ 乳酸脱氢酶（LDH）活性检测试剂盒（微量法）
KTB1300	CheKine™ 葡萄糖含量检测试剂盒（微量法）
KTB1100	CheKine™ 乳酸检测试剂盒（微量法）

CheKine™ 抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 活性检测流程示意图

(AbbKine 货号：KTB3091)

样本处理



植物组织

1 mL Reagent I

捣碎，冰浴超声破碎5 min
(功率20%或200 W，超声
3 s，间隔7 s，重复30次)



13000 g，4℃离心20 min，取上清



体系配置



测定孔

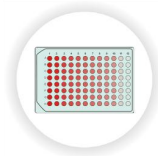
样本 20 μL

Reagent I 140 μL

Working Reagent II 20 μL

Working Reagent III 20 μL

迅速混匀



数据检测

测定290 nm处10 s和2 min 10s吸光值
结果计算