

# 木质素过氧化物酶（LiP）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1226

保存：4℃避光保存 6 个月

规格：48T/96T

适用样本：植物组织、细菌、真菌、培养液等液体样本

## 产品简介

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  $H_2O_2$  存在时，LiP 能氧化分解芳香环多聚体，被认为是木质素降解的关键酶之一。LiP 主要是由微生物分泌所产生，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。本试剂盒提供了一种简便的比色测定法，用于测定样本中的 LiP 活性。其原理是木质素过氧化物酶催化天青脱甲基，在 651nm 处测定吸光值减少来计算 LiP 活性。

## 产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
试剂一	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	4℃ 保存
试剂二	2.5mL	5mL	4℃ 避光保存
试剂三	2.5mL	5mL	4℃ 保存

## 自备耗材

酶标仪或分光光度计（能测651nm处的吸光度）及恒温箱

96孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

制冰机、低温离心机

去离子水

匀浆器（如果是组织样本）

## 试剂准备

试剂一：临用前48T加入58mL去离子水，96T加入116mL去离子水，充分溶解待用，用不完的试剂可4℃保存一个月或分装-20℃长期保存。

试剂二：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

试剂三：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

工作液：每孔准备 160μL 工作液，现配现用：吸取 80μL 试剂一，40μL 试剂二，40μL 试剂三，混合均匀。

## 样本制备

组织：称取 0.1g 样本，加入 1mL 试剂一，冰浴匀浆，10,000g, 4℃ 离心 10min，取上清液置冰上检测。

细菌或真菌：先收集细菌或真菌到离心管内，离心后弃上清；按 500 万细菌或真菌加入 1mL 试剂一的比例加入试剂一，冰浴超声波破碎 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），10,000g, 4℃离心 10min，取上清液置冰上检测。

培养液等液体样本：直接检测。若溶液浑浊则离心后取上清进行检测。

**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。如需测定蛋白浓度，推荐使用 BCA 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。**

## 实验步骤

## 产品说明书

1. 酶标仪或分光光度计预热30min以上，调节波长到651nm，分光光度计去离子水调零。
2. 样本测定：在96孔板或微量比色皿中加入40 μL样本和160 μL工作液（μL）。充分混匀，记录651nm处1min时的吸光值A<sub>1</sub>和6min后的吸光值A<sub>2</sub>，计算ΔA=A<sub>1</sub>-A<sub>2</sub>。

**注意：**实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验，如果ΔA小于0.001可适当加大样本量，如果ΔA大于0.5，样本可用试剂一进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数。

### 结果计算

#### A. 用96孔板测定的计算公式

##### 1. 按照样本质量计算

酶活性定义：每g组织在反应体系中每分钟A651变化0.005为一个酶活力单位。

$$\text{LiP 活性 (U/g 鲜重)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 0.005 \div T = 200 \times \Delta A \div W$$

##### 2. 按照细菌或真菌细胞数量计算

酶活性定义：每1万个细菌或真菌在反应体系中每分钟A651变化0.005为一个酶活力单位。

$$\text{LiP 活性 (U/10}^4 \text{ cell)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 0.005 \div T = 0.4 \times \Delta A$$

##### 3. 按照液体体积计算

酶活性定义：每mL液体样本在反应体系中每分钟A651变化0.005为一个酶活力单位。

$$\text{LiP 活性 (U/mL)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div V_{\text{样}} \div 0.005 \div T = 200 \times \Delta A$$

##### 4. 按照蛋白浓度计算

酶活性定义：每mg组织蛋白在反应体系中每分钟A651变化0.005为一个酶活力单位。

$$\text{LiP 活性 (U/mg prot)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div 0.005 \div T = 200 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

#### B. 使用微量比色皿测定的计算公式

##### 1. 按照样本质量计算

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

$$\text{LiP 活性 (U/g 鲜重)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 0.01 \div T = 100 \times \Delta A \div W$$

##### 2. 按照细菌或真菌细胞数量计算

酶活性定义：每1万个细菌或真菌在反应体系中每分钟A651变化0.01为一个酶活力单位。

$$\text{LiP 活性 (U/10}^4 \text{ cell)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 0.01 \div T = 0.2 \times \Delta A$$

##### 3. 按照液体体积计算

酶活性定义：每mL液体样本在反应体系中每分钟A651变化0.01为一个酶活力单位。

$$\text{LiP 活性 (U/mL)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div V_{\text{样}} \div 0.01 \div T = 100 \times \Delta A$$

##### 4. 按照蛋白浓度计算

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

$$\text{LiP 活性 (U/mg prot)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div 0.01 \div T = 100 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

V<sub>反应</sub>：反应总体积，0.2mL；V<sub>样</sub>：反应中样本体积，0.04mL；V<sub>样总</sub>：加入提取液体积，1mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；500：细胞数量，500万；T：反应时间，5min。

### 注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

### 相关产品：

- PMK1227 木质素检测试剂盒(微量法)
- PMK1038 过氧化物酶 (POD) 检测试剂盒(微量法)
- PMK1037 过氧化氢酶 (CAT) 检测试剂盒(微量法)
- PMK1025 谷胱甘肽过氧化物酶 (GPX) 检测试剂盒(微量法)
- PMK1225 锰过氧化物酶 (MnP) 检测试剂盒(微量法)

更多产品详情了解，请关注公众号：

