

Laccase Activity Assay Kit

漆酶(Lac)活性检测试剂盒 分光法

产品编号	产品名称	规格
BL1806A	漆酶(Lac)活性检测试剂盒 分光法	48T

产品简介:

漆酶 (EC 1.10.3.2) 是一种含铜的多酚氧化酶, 属于铜蓝氧化酶家族, 广泛分布于真菌和高等植物中, 具有较强的氧化还原能力, 在纸浆生物漂白, 环境污染物降解和木质纤维素降解以及生物检测方面有非常广泛的应用。

漆酶分解底物 ABTS 产生 ABTS 自由基, 在 420nm 处的吸光系数远大于底物 ABTS, 测定 ABTS 自由基的增加速率, 可计算得漆酶活性。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	60mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	28mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	粉末×3 瓶	4°C保存	临用前甩几下使粉剂落到底部, 每瓶加 4mL 蒸馏水充分溶解, 4°C保存一周, 若变色则不能使用。

使用方法:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

一、样本准备

1. 组织样本:

- 称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆;
- 12000rpm, 4°C离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照组织质量 (g): 提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例进行提取。

2. 细胞/细菌样本:

- 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清;
- 取 5×10^6 个细菌或细胞加入 1mL 提取液, 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次);
- 12000rpm 4°C离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 按照每 $0.5 \sim 1 \times 10^7$ 个细菌/细胞加入 1mL 提取液进行提取。

3. 液体样品:

直接检测。若浑浊, 离心后取上清检测。

二、样品测定

- 可见分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 420nm, 蒸馏水调零。
- 在 1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm) 中依次加入:



试剂名称 (μL)	测定管
样本	120
试剂一	480
试剂二	200
25°C, 立即于 420nm 处读取吸光值 A1, 反应 5min 后读取 A2, ΔA=A2-A1。	

【注】：若ΔA 差值较小，可增加样本量 V1（如由 120μL 增至 240μL，则试剂一相应减少）或延长反应时间 T（如由 5min 增至 15min），则改变后的样本体积 V1 和反应时间 T 则代入计算公式重新计算。

三、结果计算

1. 按照蛋白浓度计算：

酶活定义：每毫克蛋白每分钟氧化 1nmol 底物 ABTS 所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{漆酶活性(nmol/min/mg prot)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^9] \div (V1 \times Cpr) \div T = 37.04 \times \Delta A \div Cpr$$

2. 按照样本质量计算：

酶活定义：每克样品每分钟氧化 1nmol 底物 ABTS 所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{漆酶活性(nmol/min/g 鲜重)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^9] \div (W \times V1 \div V) \div T = 37.04 \times \Delta A \div W$$

3. 按照细胞数量计算：

酶活定义：每 10⁴ 个细胞每分钟氧化 1nmol 底物 ABTS 所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{漆酶活性(nmol/min/10}^4 \text{ cell)} &= [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^9] \div (\text{细胞数量} \times V1 \div V) \div T \\ &= 37.04 \times \Delta A \div \text{细胞数量} \end{aligned}$$

4. 按照液体体积计算：

酶活定义：每毫升液体每分钟氧化 1nmol 底物 ABTS 所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{漆酶活性(nmol/min/mL)} = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times 10^9] \div V1 \div T = 37.04 \times \Delta A$$

ε---ABTS 摩尔消光系数：36×10³L/mol/cm

d---光径，1cm

V---加入提取液体积，1mL

V1---反应中样本体积，0.12mL

V2---反应总体积，0.8mL=8×10⁻⁴L

T---反应时间，5min

W---样本质量，g

Cpr---样本蛋白质浓度，mg/mL

细胞数量---万

注意事项：

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：

4°C保存六个月。

