

土壤木质素过氧化物酶(S-LiP)检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
SMHC1-M48	土壤木质素过氧化物酶检测试剂盒	48T	微量法
SMHC1-M96		96T	

一、测定意义

木质素过氧化物酶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。

二、测定原理

木质素过氧化物酶氧化藜芦醇生成藜芦醛，在 310nm 处有特征吸收峰。

三、试剂组成

试剂名称	试剂装量 (48T)	试剂装量 (96T)	保存条件
试剂一	液体 25 mL×1 瓶	液体 100 mL×1 瓶	4℃ 保存
试剂二	粉剂×2 瓶	粉剂×2 瓶	4℃ 保存
临用前取 1 瓶加入 2.5 mL 乙醇溶解，用不完的试剂可以 2-8℃ 保存 2 周，实验前再将试剂二用乙醇稀释 10 倍备用，现用现配			
试剂三	液体 10 μL×1 支	液体 20 μL×1 支	4℃ 保存
使用前请离心。取 6μL 试剂三加入 3mL 蒸馏水充分混合备用，现用现配。			

四、操作步骤

1、样本前处理

新鲜土样自然风干或者 37℃ 烘箱风干，过 30-50 目筛。

2、操作步骤

	测定管	对照管
土样 (g)	0.03	0.03
甲苯 (μL)	15	15
试剂一 (μL)	240	240
试剂二 (μL)	30	-
试剂三 (μL)	15	-
30℃ 水浴反应 1h 后立刻煮沸 5min		
试剂二 (μL)	-	30

试剂三 (μL)	-	15
12000g 常温离心 10min。取 200μL 上清于微量石英比色皿中或 96 孔 UV 板中测定 310nm 处的吸光值，分别记为 A 测定管、A 对照管，计算 $\Delta A=A$ 测定管-A 对照管。		

注：每个待测样本需设定一个测定管和一个对照管；

五、单位定义与计算

A、按微量石英比色皿计算：

酶活性定义：每克土壤每分钟生成 1nmol 藜芦醛所需的酶量为一个酶活力单位。

$$S\text{-LiP 活性 (U/g 土样)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反应}} \div W \div T = 0.538 \times \Delta A \div W$$

ϵ ：藜芦醛摩尔消光系数：9300L/mol/cm；d：比色皿光径，1cm； V

$V_{\text{反应}}$ ：反应总体积，0.5mL=3×10⁻⁴L；W：土样质量，g；T：反应时间，60min；10⁹：单位换算系数，1mol=10⁹nmol。

B、按 96 孔 UV 板计算：

酶活性定义：每克土壤每分钟生成 1nmol 藜芦醛所需的酶量为一个酶活力单位。

$$S\text{-LiP 活性 (U/g 土样)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反应}} \div W \div T = 0.896 \times \Delta A \div W$$

ϵ ：藜芦醛摩尔消光系数：9300L/mol/cm；d：96 孔板光径，0.6cm；V_{反应}：反应总体积，0.3mL=3×10⁻⁴L；W：土样质量，g；T：反应时间，60min；10⁹：单位换算系数，1mol=10⁹nmol。

六、注意事项

- 1、因波长 310nm 处于紫外波段，需自备微量石英比色皿或者 96 孔 UV 板。
- 2、试剂的量均超过测定 48 份样本匹配的量，按需要配制。
- 3、不同土壤样本的木质素过氧化物酶差异较大，先做预实验确认样本活力。
- 4、因需要使用甲苯，故尽量在通风条件下进行；

七、公司介绍

陌凡生物科技有限公司是一家专业从事转基因检测、食品安全以及动植物疫病检测为核心业务的生物科技公司。能够为客户提供动植物疫病检测试剂、小分子抗原抗体、植物激素、植物抗体、重组蛋白等优质产品。自主研发了涵盖分子生物学、细胞生物学、免疫学、生物医学等领域的各种试剂盒。产品覆盖面广，品质可靠。