

草酸氧化酶 (OXO)活性试剂盒说明书

(货号: G0896W 微板法 96 样)

一、产品简介:

草酸氧化酶 (Oxalate Oxidase, 简称OXO) 是一种广泛存在于植物、真菌和细菌中的氧化还原酶, 其核心功能是催化草酸 (乙二酸) 的氧化分解, 生成二氧化碳 (CO₂) 和过氧化氢 (H₂O₂)。生成的过氧化氢和特异显色剂反应产生(粉)红色产物, 该产物在510nm有最大吸收峰, 通过计算得到草酸氧化酶的酶活大小。

反应方程式: 草酸 + O₂ → 2CO₂ + H₂O₂ (OXO 催化)。

二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 10mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	粉体 mg×1 支	4℃保存	临用前甩几下使粉体落入底部, 每支加 1.2mL 的蒸馏水溶解备用, 可分装冻存。
试剂三	液体 10mL×1 瓶	4℃保存	
标准管	液体 1mL×1 支	4℃保存	

三、所需仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、天平、移液器、研钵、低温离心机、蒸馏水。

四、草酸氧化酶 (OXO)活性测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品和实验流程, 避免样本和试剂浪费!

1、样本制备:

- ① 组织样本: 0.1g 组织样本 (水分充足的样本建议取 0.2g 左右), 加 1mL 的提取液冰浴匀浆, 12000rpm, 4℃离心 10min, 上清液待测。
- ② 细胞/细菌样本: 先收集细胞到离心管内, 离心后弃上清; 取约 500 万细胞/细菌加入 1mL 提取液研磨, 超声波破碎细胞/细菌 (冰浴, 功率 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 12000rpm 4℃离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】: 若增加样本量, 可按照细胞数量 (10⁴): 提取液 (mL) 为 500~1000: 1 的比例进行提取。

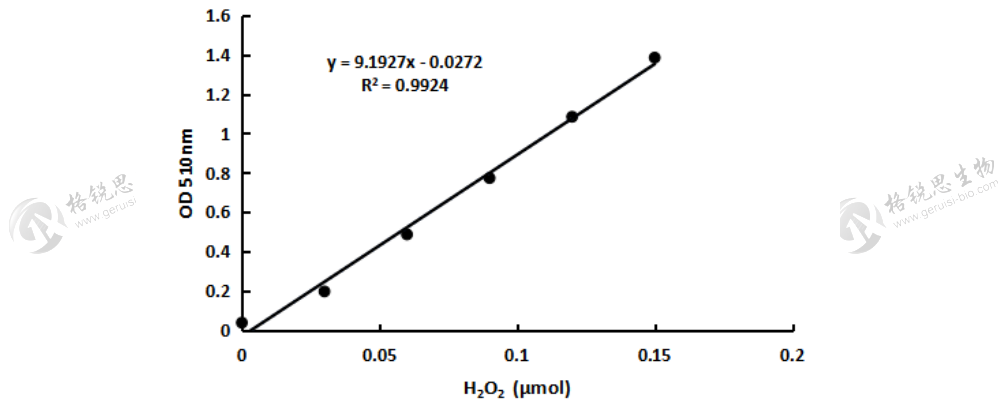
2、上机检测:

- ① 酶标仪预热 30min, 设定波长到 510nm。
- ② 所有室温至室温 (25℃)。在 96 孔板中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管
样本	50
试剂一	90
试剂二	10
试剂三	80
混匀, 于 510nm 下读取吸光值 A1, 37℃孵育 30min 后读取吸光值 A2, ΔA = A2 - A1。	

五、结果计算:

- 1、标准曲线: $y = 9.1927x - 0.0272$, x 为 H₂O₂ 标准品(μmol), y 为 ΔA。



2、按样本鲜重计算:

单位定义: 在 37°C, 每克组织每分钟生成 1nmol 的 H₂O₂ 定义为一个酶活单位 (U)。

$$\begin{aligned} \text{OXO (nmol/min/g 鲜重)} &= [(\Delta A + 0.0272) \div 9.1927] \div (W \times V1 \div V) \times 10^3 \div T \\ &= 72.52 \times (\Delta A + 0.0272) \div W \end{aligned}$$

3、按样本蛋白浓度计算:

单位定义: 在 37°C, 每毫克组织蛋白每分钟生成 1nmol 的 H₂O₂ 定义为一个酶活单位 (U)。

$$\begin{aligned} \text{OXO (nmol/min/mg prot)} &= [(\Delta A + 0.0272) \div 9.1927] \div (V1 \times Cpr) \times 10^3 \div T \\ &= 72.52 \times (\Delta A + 0.0272) \div Cpr \end{aligned}$$

4、按细胞/细菌数量计算:

单位定义: 在 37°C, 每 10⁴ 个细胞/细菌每分钟生成 1nmol 的 H₂O₂ 定为一个酶活单位 (U)。

$$\begin{aligned} \text{OXO (nmol/min/10}^4 \text{ cell)} &= [(\Delta A + 0.0272) \div 9.1927] \div (500 \times V1 \div V) \times 10^3 \div T \\ &= 0.145 \times (\Delta A + 0.0272) \end{aligned}$$

V---加入提取液体积, 1 mL;

V1---加入样本体积, 0.05mL;

T---反应时间, 30min;

W---样本质量, g;

500---细胞数量, 万;

Cpr---样本蛋白质浓度, mg/mL, 建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。

附: 标准曲线制作过程:

- 1 制备标准品母液 (250μmol/mL)。
- 2 把母液稀释成以下浓度: 0, 0.6, 1.2, 1.8, 2.4, 3μmol/mL。也可根据实际调整浓度。
- 3 在 96 孔板中直接加入: 50μL 标准品+100μL 试剂一+80μL 试剂三, 混匀, 37°C 孵育 30min 于 510nm 处读值, 依据结果即可制作标准曲线。