吲哚乙酸氧化酶检测试剂盒（IAA比色法）

产品货号：BA1752

产品规格：50T

产品简介：

植物体内生长素的种类很多，其中吲哚乙酸(IAA)是植物体内普遍存在的一种生长素，植物体内IAA的含量，对于植物的生长、发育、衰老、脱落等均有重要意义。植物体内存在吲哚乙酸氧化酶(Indoleacetic acid oxida-se) ，该酶是植物体内一种氧化分解吲哚乙酸的酶，吲哚乙酸氧化酶能够氧化IAA使其失去活性，从而调节体内IAA的水平，影响植物的生长。

吲哚乙酸氧化酶检测试剂盒(IAA比色法) 检测原理是吲哚乙酸在吲哚乙酸氧化酶作用下形成吲哚醛，使体系中吲哚乙酸含量减少，剩余的吲哚乙酸在无机酸存在下与$FeCl_3$作用生成红色螯合物，吲哚乙酸氧化酶活性的大小可以用其破坏吲哚乙酸的速度表示，通过比色法(酶标仪)测定530nm处吸光度，根据对照与待测样品中吲哚乙酸含量的差值，计算出吲哚乙酸氧化酶活性水平，该试剂盒主要用于检测植物样本、血清等中吲哚乙酸氧化酶活性，尤其适用于定量测定植物样本吲哚乙酸氧化酶活性。该试剂盒仅用于科研领域，不宜用于临床诊断或其他用途。

产品组成：

产品名称	50T	保存条件
试剂(A): IAA标准(200μg/ml)	25ml	2-8℃，避光
试剂(B): IAA Lysis buffer	250ml	室温
试剂(C): IAA Assay buffer	60ml	2-8℃，避光
试剂(D): IAA显色液	20ml	室温，避光

自备材料：

1. 恒温箱或水浴锅、研钵或匀浆器、低温离心机、比色杯、分光光度计、离心管或试管
2. 蒸馏水、浓硫酸

操作步骤（仅供参考）：

1. 准备样品：

①植物样品：将大豆或绿豆等种子置于30℃中避光萌发3~4天，选取生长一致的幼苗，除去子叶和根，留下胚轴作为材料。取胚轴称重，按每100mg加入1ml的预冷的IAA Lysis buffer的比例，冰浴情况下充分匀浆或研磨，4℃ 4000g离心20min ，留取上清液即为吲哚乙酸氧化酶粗提液。短期4℃保存待用。

②血浆、血清和尿液样品：血浆、血清按照常规方法制备后可以直接用于本试剂盒的测定，-4℃保存，用于吲哚乙酸氧化酶的检测。

③用细胞或组织样品：取恰当细胞或组织裂解液，如有必要用IAA Lysis buffer进行适当匀浆，4℃ 4000g离心20min，取上清液，-4℃保存，用于吲哚乙酸氧化酶的检测。

④高活性样品：如果样品中含有较高活性的吲哚乙酸氧化酶，可以使用IAA Lysis buffer工作液进行恰当的稀释。

2. 配制IAA显色工作液：取适量的IAA显色液，按IAA显色液：蒸馏水：浓硫酸=1：4：6的比例混合，即为:IAA显色工作液，4℃密闭保存，即配即用，不易久置。注意：浓硫酸为强腐蚀性物质，操作须极其小心。
3. 稀释IAA标准溶液：取适量的IAA标准(200μg/ml) ，按下表进行稀释：

加入物(ml)	1	2	3	4	5	6	7	8
IAA标准(200μg/ml)	0.025	0.05	0.075	0.1	0.125	0.15	0.175	0.2
蒸馏水	0.975	0.95	0.925	0.9	0.875	0.85	0.825	0.8
IAA浓度(μg/ml)	5	10	15	20	25	30	35	40

4. 样本处理：按照下表设置对照液、测定液，溶液应按照顺序依次加入，并注意避免产生气泡。

扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd
地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号
电话：400-611-0007 13671551480
Q Q：807961520
邮箱：saintbio@126.com
http://www.saint-bio.com

加入物(ml)	对照液	测定液
IAA Assay buffer	1.2	1
待测样品	-	0.2
IAA Lysis buffer	0.4	0.4
IAA标准(200μg/ml)	0.4	0.4
25℃孵育30min。		

5. IAA加样：按照下表设置空白管、标准管、对照管、测定管，溶液应按照顺序依次加入，并注意避免产生气泡，取若干离心管或试管先加入4ml IAA显色工作液，再参考下表依次加入1ml各种溶液，小心混匀，置于40℃孵育30min，使反应液呈红色。如果样品中的吲哚乙酸氧化酶活性过高，可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定，样品的检测最好能设置2平行管，求平均值。

加入物(ml)	空白孔	测定孔	对照孔	测定孔
IAA显色工作液	4	4	4	4
蒸馏水	1	-	-	-
系列IAA标准(1~8号）	-	1	-	-
对照液	-	-	1	-
测定液	-	-	-	1

6. IAA测定：比色杯光径1cm，以空白管调零，以分光光度计测定标准管、对照管、测定管530nm处吸光度(记为$A_{标准}$、$A_{对照}$、$A_{测定}$) 。

计算：

吲哚乙酸氧化酶活性定义：以1ml在吲哚乙酸氧化酶提取液在1h内氧化的吲哚乙酸量(mg)表示酶活力大小。

以1~8号系列IAA标准溶液浓度(5、10、15、20、25、30、35、40μg/ml) 为横坐标，以对应的吸光度为纵坐标，绘制标准曲线，直接计算直线回归方程。

组织样品的吲哚乙酸氧化酶活性(μg/ml ·g ·h)={(C_1-C_2)×V×V_T}/(W×t×V_1)

液体样品的吲哚乙酸氧化酶活性(μg/ml ·g ·h)={(C_1-C_2)×V×V_T}/(W×t×V_1)

式中：C_1=根据标准曲线求得的对照管IAA含量(μg/ml)

C_2=根据标准曲线求得的测定管IAA含量(μg/ml)

V_T =酶提取液稀释后总体积(ml)=步骤1结束时所得酶粗提液体积(ml)

V_1 =加样时所用酶的体积(ml)=0.2

V=样本处理时的液体总体积(ml)=5

W=样品鲜重(g)

t=酶反应时间(h)=1

注意事项：

1. 实验材料应尽量新鲜，如取材后不立即使用，应存于-20-80℃。
2. 待测样品中不能含有磷酸酶抑制剂，同时需避免反复冻融。
3. 如果没有分光光度计，也可以使用酶标仪测定，但应考虑酶标仪的最大检测体积。
4. IAA标准(200μg/ml)见光易分解，含有IAA的相关操作均应尽量避光操作。
5. 所测样本的浓度过高，应用IAA Lysis buffer工作液稀释样品后重新测定。
6. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
7. 试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

有效期：

6个月有效。

扫一扫 加微信
上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd
地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号
电话：400-611-0007 13671551480
Q Q：807961520
邮箱：saintbio@126.com
http://www.saint-bio.com