植物中脂氧合酶（LOX）活性检测试剂盒（微量法）

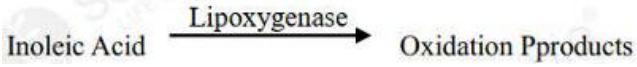
产品货号：BA1500

产品规格：100管/96样

产品简介：

LOX广泛存在于植物组织中，特别是黄豆种子中。LOX催化不饱和脂肪酸氧化反应，导致膜脂过氧化。在植物的生长发育、成熟衰老及逆境胁迫过程中具有重要作用。

LOX催化亚油酸氧化，氧化产物在234nm处有特征吸收峰；测定234nm吸光度增加速率，来计算LOX活性。



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。

产品内容：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体110mL×1瓶	2-8℃
粉剂一	粉剂×1瓶	2-8℃
试剂一	液体20mL×1瓶	2-8℃
试剂二	液体3mL×1瓶	2-8℃

溶液的配制：

1. 提取液：临用前将粉剂一倒入提取液中，溶液为悬浊液，使用前需摇匀。

需自备的仪器和用品：

研钵/匀浆器、冰、台式离心机、紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96孔板（UV板）、可调式移液枪和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

按照组织质量(g):提取液体积(mL)为1:5~10的比例(建议称取约0.1g组织，加入1mL提取液)进行冰浴匀浆，然后16000g，4°C，离心20min，取上清置于冰上待测。

二、测定步骤：

1. 分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长到234nm，分光光度计蒸馏水调零。
2. 试剂一在25°C水浴中预热30min以上。
3. 空白管：依次在微量石英比色皿/96孔板中加入20μL蒸馏水、160μL试剂一和20μL试剂二，迅速混匀后于234nm比色，记录15s和75s的吸光值，分别记为A1和A2。空白管只需做1-2次。
4. 测定管：依次在微量石英比色皿/96孔板中加入20μL上清液、160μL试剂一和20μL试剂二，迅速混匀后于234nm比色，记录15s和75s的吸光值，分别记为A3和A4。

二、LOX活性计算

a.使用微量石英比色皿测定的计算公式如下

1. 按蛋白浓度计算

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

活性单位定义：在1mL体系下，25℃中每毫克蛋白每分钟催化吸光值变化0.001个单位为一个酶活单位。

LOX (U/mg prot) = [(A4-A3)-(A2-A1)]÷0.001÷(Cpr×V样)÷T×V反总=10000×[(A4-A3)-(A2-A1)]÷Cpr

2. 按样本质量计算

活性单位定义：在1mL体系下，25℃中每克样本每分钟催化吸光值变化0.001个单位为一个酶活单位。

LOX (U/g 质量) = [(A4-A3)-(A2-A1)]÷0.001÷(V样÷V样总×W)÷T×V反总=10000×[(A4-A3)-(A2-A1)]÷W

Cpr：上清液蛋白浓度，mg/mL，（需另外测定）；W：样本质量，g；V样：加入反应体系中上清液体积，20μL=0.02mL；V样总：上清液总体积，1mL；T：反应时间，1min；V反总：反应体系总体积，0.2mL。

b.使用96孔UV板测定的计算公式如下

1. 按蛋白浓度计算

活性单位定义：在1mL体系下，25℃中每毫克蛋白每分钟催化吸光值变化0.0006个单位为一个酶活单位。

LOX (U/mg prot) = [(A4-A3)-(A2-A1)]÷0.0006÷(Cpr×V样)÷T×V反总= 16667×[(A4-A3)-(A2-A1)]÷Cpr

2. 按样本质量计算

活性单位定义：在1mL体系下，25℃中每克样本每分钟催化吸光值变化0.0006个单位为一个酶活单位。

LOX (U/g质量) = [(A4-A3)-(A2-A1)]÷0.0006÷(V样÷V样总×W)÷T×V反总=16667×[(A4-A3)-(A2-A1)]÷W

Cpr：上清液蛋白浓度，mg/mL，（需另外测定）；W：样本质量，g；V样：加入反应体系中上清液体积，20μL=0.02mL；V样总：上清液总体积，1mL；T：反应时间，1min；V反总：反应体系总体积，0.2mL。

注意事项：

1. 样本处理等过程均需要在冰上进行，且须在当日完成酶活性测定。
2. 正式实验前做1~2个预实验，保证ΔA的值在0.02~1.2（微量石英比色皿）/0.012~0.72（96孔板）范围内；若反应后为明显的悬浊液，则需稀释后再测。
3. 若提取后样本匀浆液颜色过深，可加入3-5mg活性炭充分震荡5min左右再离心取上清待测。