

## 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。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。**

### 产品内容:

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体100mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体22.5mL×1瓶	2-8℃
试剂二	粉剂×1瓶	2-8℃

### 溶液的配制:

1. 提取液: 含不溶性物质,使用前混匀即可。
2. 试剂二: 临用前加入5mL试剂一,充分溶解,滴加0.1mL 0.2 mol/L NaOH至溶液澄清。

### 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)

称取约0.1g样本,加提取液1mL,冰上充分研磨,16000g 4℃离心20min,取上清液置冰上待测。

#### 二、测定操作表:

1. 分光光度计/酶标仪预热30min以上,调节波长到234nm,蒸馏水调零。
2. 试剂一在25℃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20 μL蒸馏水、160 μL试剂一和20 μL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。
4. 测定管: 依次在微量石英比色皿/96孔板中加入20 μL上清液、160 μL试剂一和20 μL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

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。

$$\text{LOX (U/mg prot)} = [(A4-A3)-(A2-A1)] \div 0.001 \div (\text{Cpr} \times \text{V样}) \div \text{T} \times \text{V反总} = 10000 \times [(A4-A3)-(A2-A1)] \div \text{Cpr}$$



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

## 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。

$$\text{LOX (U/g 质量)} = [(A4-A3)-(A2-A1)] \div 0.001 \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T \times V_{\text{反总}} = 10000 \times [(A4-A3)-(A2-A1)] \div W$$

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, 20 $\mu$ L=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

## 3. 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。

$$\text{LOX (U/mg prot)} = [(A4-A3)-(A2-A1)] \div 0.0006 \div (Cpr \times V_{\text{样}}) \div T \times V_{\text{反总}} = 16667 \times [(A4-A3)-(A2-A1)] \div Cpr$$

## 4. 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。

$$\text{LOX (U/g质量)} = [(A4-A3)-(A2-A1)] \div 0.0006 \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T \times V_{\text{反总}} = 16667 \times [(A4-A3)-(A2-A1)] \div W$$

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, 20 $\mu$ L=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. 试剂二易自发氧化，从而导致空白管测定值偏高，必须临用前配制。
2. 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。
3. 正式实验前做1~2个预实验，保证 $\Delta A$ 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。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com