



植物脂氧合酶 (LOX) 活性检测试剂盒
Plant Lipoxygenase (LOX) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



植物脂氧合酶（LOX）活性检测试剂盒

Plant Lipoyxygenase (LOX) Activity Assay Kit

一、产品描述

脂氧合酶（LOX）是一种广泛存在于植物中含非血红素铁的氧化还原酶，作为植物十八碳酸代谢途径的关键酶，能够专一性催化多元不饱和脂肪酸的加氧反应，生成具有共轭双键的过氧化氢物，导致膜脂过氧化，直接或间接参与植物的生长、发育、成熟和衰老的调控过程，对植物生长发育、成熟衰老以及对环境胁迫的反应具有重要的影响。

脂氧合酶能够催化亚油酸氧化，产物在 234 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化速率即可表征植物脂氧合酶的活性。

二、产品内容

名称		试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液		液体 110 mL×1 瓶	4°C保存	内含白色不溶物质，充分混匀后使用即可
试剂一		液体 30 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂二	组分 A	粉剂×2 瓶	-20°C避光保存	使用前每瓶组分 A 中加入 3 mL 组分 B 充分溶解 (分装后-20°C可保存 2 周，避免反复冻融)
	组分 B	液体 8 mL×1 瓶	-20°C保存	

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：酶标仪、96 孔 UV 板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1.粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

按照样本质量（g）：提取液体积（mL）为 1：（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴研磨至匀浆，4°C 15000 g 离心 20 min，取上清即为粗酶液，置于冰上待测。

注：若植物样本质地坚硬，可液氮研磨后再加入提取液，冰浴匀浆后离心取上清置于冰上待测。

2.测定步骤

①酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 234 nm。

②试验前将试剂一 25℃预热 30 min 以上。

③在 96 孔 UV 板中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)	空白组 (μL)
粗酶液	20	-
蒸馏水	-	20
试剂一	160	160
试剂二	20	20

吸光值测定：①充分混匀并立即开始计时，测定 15 s（总时间）时 234 nm 处吸光值，记为 A1 测定和 A1 空白；②准确反应 60 s，测定 75 s（总时间）时 234 nm 处吸光值，记为 A2 测定和 A2 空白；③计算 ΔA 测定 = A2 测定 - A1 测定， ΔA 空白 = A2 空白 - A1 空白， $\Delta A = \Delta A$ 测定 - ΔA 空白。注：空白组只需测定 1-2 次。

3.植物脂氧合酶（LOX）活性计算

①按组织样本质量计算

单位定义：25℃条件下，每 g 组织样本每分钟使吸光值变化 0.0005 定义为一个酶活力单位。

$$\text{LOX (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{0.0005 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{20000 \times \Delta A}{W}$$

②按组织蛋白浓度计算

单位定义：25℃条件下，每 mg 组织蛋白每分钟使吸光值变化 0.0005 定义为一个酶活力单位。

$$\text{LOX (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}}}{0.0005 \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{20000 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

注释： V 反总：反应体系总体积，0.2 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.02 mL；Cpr：粗酶液蛋白浓度，mg/mL；W：样品质量，g；T：反应时间，1 min。

四、注意事项

①提取和测定过程均需在冰上进行以免酶失活，粗酶液制备完成后需当日完成测定；

②准确在 15 s 和 75 s 时间点完成吸光值测定，以确保实验结果的准确性和重复性；若同时测定多个样本，建议使用多道移液器且分批进行检测，以确保组间反应时间一致；

③若吸光值超过 3.0，请检查酶标板使用的是否为 96 孔 UV 板；

④若 A2 测定或若 ΔA 测定大于 0.8，建议将粗酶液使用试剂一适当稀释后再进行测定；若 ΔA 测定小于 0.02，建议适当延长酶促反应时间或制备更高浓度样本后再进行测定，计算时相应修改；

⑤试剂二配制后有效期较短，为便于试验安排，附赠一瓶作为备用，每瓶均可满足至少 100 个样本的测定用量；

⑥为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

