植物脂氧合酶（LOX）活性检测试剂盒

Plant Lipoxidase (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 Lipoxidase (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，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 60 mL×1 瓶	4°C保存	**内含白色不溶物质，使用前充分混匀**
试剂一	液体 60 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂二	粉剂×1 瓶	4°C避光保存	**使用前加入 6 mL 试剂一充分溶解** （现用现配，未使用试剂置于 4°C保存）

注：试剂二瓶内含棕色离心管，加入 500 μL 试剂一将离心管中固体充分溶解后，洗入棕色瓶中即可。

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：紫外分光光度计、1 mL 石英比色皿（光径 10 mm）、研钵/匀浆器、可调式移液器、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紫外分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 234 nm，蒸馏水调零。

Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

②试验前将**试剂一** 25℃预热 30 min 以上。

③在 1 mL 石英比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组（μL）	空白组（μL）
粗酶液	100	-
蒸馏水	-	100
试剂一	800	800
试剂二	100	100

吸光值测定：①充分混匀并立即开始计时，测定 15 s 时 234 nm 处吸光值，记为 A1 测定和 A1 空白；②测定 75 s 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，ΔA=ΔA 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 0.001 定义为一个酶活力单位。

$$\text{LOX（U/g）} = \frac{\Delta A \times V_{反总} \times V_{样总}}{0.001 \times W \times V_{样} \times T} = \frac{10000 \times \Delta A}{W}$$

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 0.001 定义为一个酶活力单位。

$$\text{LOX（U/mg prot）} = \frac{\Delta A \times V_{反总}}{0.001 \times Cpr \times V_{样} \times T} = \frac{10000 \times \Delta A}{Cpr}$$

注释：V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.1 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 反总：反应体系总体积，1 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样品质量，g；T：反应时间，60 s=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准确在规定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；

③若ΔA 大于 1.2，建议将粗酶液使用**试剂一**适当稀释后再进行测定，计算时相应修改；

④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.

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

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.