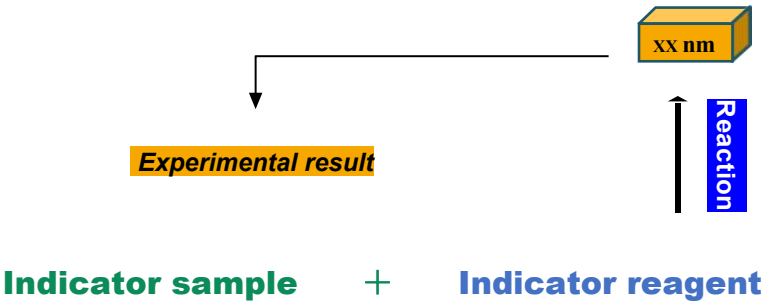
上海茁彩生物科技有限公司

Shanghai zcibio technology Co.,Ltd.



生化检测原理示意图

货号：ZC-S0684　　规格：50管/48样

植物中脂氧合酶 （LOX)检测试剂盒说明书

紫外分光光度法

正式测定前务必取2-3个预期差异较大的样本做预测定

产品内容：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体×1瓶	4℃保存	
试剂二	液体×1瓶	4℃保存	
试剂三	粉剂×1瓶	4℃保存	临用前加入5mL试剂二，充分溶解。

产品说明：

LOX广泛存在于植物组织中，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。

自备仪器和用品：

研钵、冰、台式离心机、紫外分光光度计、1mL石英比色皿、可调式移液枪和蒸馏水。

操作步骤：

一、粗酶液提取：

按照组织质量（g）：试剂一体积(mL)为1：5~10的比例（建议称取约0.1g组织，加入1mL试剂一）进行冰浴匀浆。16000g，4℃离心20min，取上清置冰上待测。

二、测定：

1. 分光光度计预热30 min，调节波长到234 nm，蒸馏水调零。
2. 试剂二在25℃水浴中预热30 min。
3. 空白管：依次在1mL石英比色皿中加入100μL蒸馏水、800μL试剂二和100μL试剂三，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1mL石英比色皿中加入100μL上清液、800μL试剂二和100μL试剂三，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。

注意：空白管只需测定一次。

三、LOX活性计算公式：

（1）按照蛋白浓度计算

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

LOX（U/mg prot）= [(A4－A3)－(A2－A1)]×V反总÷(Cpr×V样)÷T×1000

= 10000×[(A4－A3)－(A2－A1)]÷Cpr

（2）按照样本质量计算

活性单位定义：25℃中每克组织每分钟催化吸光值变化0.001个单位为1个酶活单位。

LOX（U/g）= [(A4－A3)－(A2－A1)]×V反总÷(W×V样÷V样总)÷T×1000

= 10000×[(A4－A3)－(A2－A1)]÷W

Cpr：上清液蛋白浓度，mg/mL，需另外测定，建议使用本公司BCA蛋白质含量测定试剂盒（货号：ZC-S0470）；V样：加入反应体系中上清液体积，100μL=0.1mL；V反总：反应总体积，1mL；V样总：上清液总体积，1mL；W：样本质量，g；T：反应时间，1min。

注意事项：

1. 试剂三易自发氧化，从而导致空白管测定值偏高，必须临用前配制，并且当天使用完毕。
2. 样品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。