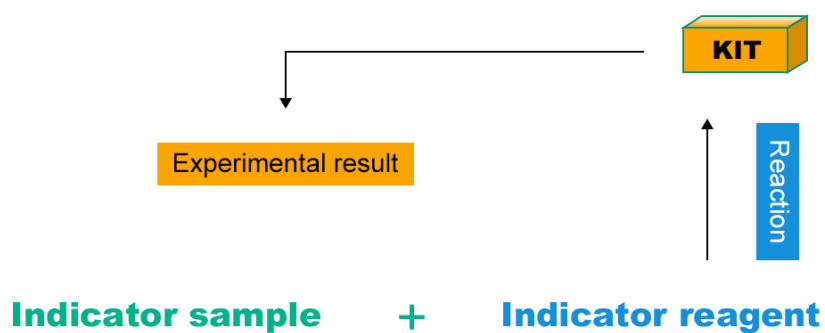


上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0684

Size: 50T/48S

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

一、测定意义:

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。

二、测定原理:

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。

三、需自备的仪器和用品:

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。

四、试剂的组成和配置:

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。

五、操作步骤:

● 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。

● 测定：

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

六、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。

$$\text{LOX (U/mg prot)} = [(A4 - A3) - (A2 - A1)] \times V_{\text{反总}} \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div T \times 1000$$
$$= 10000 \times [(A4 - A3) - (A2 - A1)] \div \text{Cpr}$$

(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。

$$\text{LOX (U/g)} = [(A4 - A3) - (A2 - A1)] \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \times 1000$$
$$= 10000 \times [(A4 - A3) - (A2 - A1)] \div W$$

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，100 μL=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。

七、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。