

植物脂氧合酶（LOX）检测试剂盒说明书

| 产品货号 | 产品名称 | 包装规格 | 测定方法 |
|-----------|--------------|------|------|
| PMHB4-C24 | 脂氧合酶(LOX)试剂盒 | 24T | 常量法 |
| PMHB4-C48 | | 48T | 常量法 |

一、测定意义

LOX 是一种含非血红素铁的蛋白质，专一催化具有顺，顺-1,4-戊二烯结构的多元不饱和脂肪酸加氧反应，氧化生成具有共轭素双键的过氧化氢物。LOX 广泛存在于高等植物体内，与果蔬采后衰老、抗逆性和脂质过氧化作用等有关。

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、试剂组成

| 试剂名称 | 试剂装量（24T） | 试剂装量（48T） | 保存条件 |
|------|--------------|--------------|------|
| 提取液 | 液体 30 mL×1 瓶 | 液体 60 mL×1 瓶 | 4℃保存 |
| 试剂一 | 液体 45 mL×1 瓶 | 液体 90 mL×1 瓶 | 4℃保存 |
| 试剂二 | 液体 10 mL×1 瓶 | 液体 20 mL×1 | 4℃保存 |

四、操作步骤

样本前处理

植物组织提取液的制备：取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液），旋涡混匀抽提 3-5 分钟或者使用组织破碎仪冰浴提取，8000g，4℃离心 10min，取上清液置冰上待测。

测定步骤

- 1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 243nm，用蒸馏水调零。
- 2、试剂回复至常温；
- 3、操作表：

| 试剂 | 空白管 | 样本管 |
|----------------------|-----|-----|
| 样本（ μL ） | - | 100 |
| 试剂一（ μL ） | 850 | 750 |
| 试剂二（ μL ） | 150 | 150 |

迅速混匀后于 234nm 比色，分别记录 15s 和 75s 的吸光值 $A_{\text{空}1}$ ， $A_{\text{空}2}$ ， $A_{\text{样}1}$ ， $A_{\text{样}2}$ ，计算各管吸光度值变化 $\Delta A_{\text{样}} = A_{\text{空}2} - A_{\text{空}1}$ ， $\Delta A_{\text{样}} = A_{\text{样}2} - A_{\text{样}1}$ 。

五、植物样本中脂氧合酶活性计算

(1) 按样本鲜重计算:

单位定义: 每分钟每克组织在每毫升反应体系中催化吸光度值增加 0.01 为一个酶活力单位。

$$\text{LOX (U/g 鲜重)} = (\Delta A_{\text{样}} - \Delta A_{\text{空}}) \times V_{\text{反应}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 0.01 \div T$$

(2) 按蛋白浓度计算:

单位定义: 每分钟每毫克组织蛋白在每毫升反应体系中催化吸光度值增加 0.01 为一个酶活力单位。

$$\text{LOX (U/mg prot)} = (\Delta A_{\text{样}} - \Delta A_{\text{空}}) \times V_{\text{反应}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 0.01 \div T$$

$V_{\text{反应}}$: 反应体系总体积, 1mL;

$V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.1mL;

$V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1 mL;

T: 反应时间, 1 min;

Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL;

W: 样本质量 g;

六、注意事项

- 1、实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。使 $\Delta A_{\text{样}}$ 的值在 0.02~0.5 范围内, 若是样本吸光值不在测量范围内, 可适当稀释或者增加样本量进行检测。
- 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、比色时需使用石英比色皿。

七、公司介绍

陌凡生物科技有限公司是一家专业从事转基因检测、食品安全以及动植物疫病检测为核心业务的生物科技公司。能够为客户提供动植物疫病检测试剂、小分子抗原抗体、植物激素、植物抗体、重组蛋白等优质产品。自主研发了涵盖分子生物学、细胞生物学、免疫学、生物医学等领域的各种试剂盒。产品覆盖面广, 品质可靠。