

## 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-M48	脂氧合酶(LOX)试剂盒	48T	微量法
PMHB4-M96		96T	

### 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（48T）	试剂装量（96T）	保存条件
提取液	液体 60 mL×1 瓶	液体 110 mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂一	液体 10 mL×1 瓶	液体 20 mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂二	液体 3 mL×1 瓶	液体 6 mL×1 瓶	-20℃保存

### 四、操作步骤：

#### 样本前处理

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、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 234nm，蒸馏水调零。
- 2、试剂回复至常温；

3、操作表（在 96 孔 UV 板（自备）中加入以下试剂）：

试剂名称（μL）	测定管	空白管
样本（μL）	20	-
试剂一（μL）	150	170
试剂二（μL）	30	30
迅速混匀后于 234nm 比色，分别记录 15s 和 75s 的吸光值 A <sub>空1</sub> ，A <sub>空2</sub> ，A <sub>样1</sub> ，A <sub>样2</sub> 计算 $\Delta A_{空} = A_{空2} - A_{空1}$ ， $\Delta A_{样} = A_{样2} - A_{样1}$ 。		

### 五、植物样本中脂氧合酶(LOX)活性计算：

1、按样本质量计算：

**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 0.005 为一个酶活力单位。

**计算公式：** $LOX(U/g) = (\Delta A_{样} - \Delta A_{空}) \times V_{反应} \div (W \times V_{样} \div V_{样总}) \div 0.005 \div T$   
 $= 2000 \times (\Delta A_{样} - \Delta A_{空}) \div W$

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 0.005 为一个酶活力单位。

**计算公式：** $LOX(U/mg prot) = (\Delta A_{样} - \Delta A_{空}) \times V_{反应} \div (V_{样} \times Cpr) \div 0.005 \div T = 2000 \times (\Delta A_{样} - \Delta A_{空}) \div Cpr$

V<sub>反应</sub>：反应体系总体积，0.2mL；V<sub>样</sub>：加入样本体积，0.02mL；

V<sub>样总</sub>：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  $\Delta A_{样}$  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 96 孔 UV 板。

#### 【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

#### 【售后微信】



#### 【说明书核准及修改日期】

核准日期：2025 年 4 月 7 日

修改日期：2025 年 4 月 7 日