脂氧合酶（LOX）活性测定试剂盒说明书

(货号：G0906W 微板法 96 样)

一、产品简介：

脂氧合酶（lipoxygenase，LOX）广泛存在于动植物组织中，催化不饱和脂肪酸氧化反应，导致膜脂过氧化。在生物体的生长发育、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，生成的产物在 234nm 处有特征吸收峰；测定 234nm 处吸光度增加速率，即可计算得出 LOX 酶活性大小。

二、试剂盒组分与配制：

试剂名称	试剂规格	保存方式	备注
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 70mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	粉剂×1 瓶	4℃保存	用前甩几下使粉剂落入底部，再加 1.5mL 蒸馏水溶解备用。

三、所需的仪器和用品：

酶标仪、96 孔板（UV 板）、低温台式离心机、可调式移液枪、研钵、冰和蒸馏水。

四、脂氧合酶（LOX）活性测定：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本制备：

① 普通组织样本：

称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液，进行冰浴匀浆。然后放置于 4℃冰箱中静置提取 30min，取出后 4℃×12000rpm 离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例进行提取。

② 果皮/果实组织样本：

此类样本很容易氧化，可取 0.25g 组织于研钵中，加液氮研磨成粉末状，再加入 1mL 提取液研磨成匀浆，然后放置于 4℃冰箱中静置提取 30min，取出后 4℃×12000rpm 离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：2~4 的比例进行提取。

2、上机检测：

① 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 234nm。

② 所有试剂解冻至室温（25℃）。

③ 在 EP 管中依次加入：

试剂（μL）	测定管	空白管（仅做一次）
样本	20	
蒸馏水		20
试剂一	670	670
试剂二	10	10
混匀后，**立即**取 200μL 转移至 96 孔板中，于室温（25℃）反应 5min，于 234nm 处读取吸光值 A，△A=A 测定-A 空白。		

五、结果计算：

1、按照蛋白浓度计算

酶活定义：25℃条件下，每毫克蛋白每分钟使 A_{234} 吸光值变化 0.05 个单位为 1 个酶活单位。

LOX (U/mg prot) = ΔA÷(Cpr×V1) ÷0.05÷T= 200× ΔA÷Cpr

2、按照样本质量计算

酶活定义：25℃条件下，每克组织每分钟使 A_{234} 吸光值变化 0.05 个单位为 1 个酶活单位。

LOX (U/g 鲜重) = ΔA÷(W×V1÷V)÷0.05÷T= 200× ΔA÷W

V1---反应体系中样本体积，20μL=0.02mL； V---提取液体积，1mL；

T---反应时间，5min； W---样品质量，g；

Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。