



脂氧合酶活性检测试剂盒

LOX Assay Kit

微量法

产品编号: AK484M

产品规格: 100T/48S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
AK484-A	60mL×1 瓶	4℃保存 (溶液为悬浊液, 使用前需摇匀);
AK484-B	20mL×1 瓶	4℃保存;
AK484-C	粉剂×1 瓶	4℃保存;

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

意义: 脂氧合酶 (Lipoxygenase, LOX; EC:1.13.11.12) 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。

原理: LOX 催化亚油酸氧化, 氧化产物在 280nm 处有特征吸收峰; 测定 280nm 吸光度增加速率, 来计算 LOX 活性。

自备用品:

紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板 (UV 板)、研钵、冰、台式离心机、可调式移液枪和蒸馏水。

粗酶液提取:

按照组织质量 (g): AK484-A 体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL AK484-A) 进行冰浴匀浆。16000g, 4℃离心 20min, 取上清置冰上待测。

测定步骤:

1. 分光光度计/酶标仪预热 30 min, 调节波长到 280nm, 蒸馏水调零。
2. 在 AK484-C 中加入 10mL AK484-B (振荡混匀 1min), 在 30℃水浴中预热 10 min 以上。用不完的试剂 4℃保存。
3. 样本测定 (在微量石英比色皿/96 孔板中加入)

试剂名称	对照管 (ul)	测定管 (ul)
样本	20	20
AK484-B	180	
AK484-C		180
30℃反应30min后, 记录A 对照和A 测定。ΔA=A 测定-A 对照		

LOX 活性计算:

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 0.01 个单位为 1 个酶活单位。

$$\text{LOX (U/mg prot)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样}}) \div T \times 100 = 33.33 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

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 0.01 个单位为 1 个酶活单位。

$$\text{LOX (U/g 鲜重)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T \times 100 = 33.33 \times \Delta A \div W$$

注: 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; V 反总: 反应体系总体积, 200μL=0.2mL; V 样: 加入反应体系中上清液体积, 20μL=0.02mL; W: 样品质量, g; V 样总: 上清液总体积, 1mL; T: 反应时间, 30min。

※ 蛋白定量检测建议使用本公司：BCA Protein Assay Kit ([C05-02001](#))

注意事项：

1. 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。
2. 正式实验前做 1~2 个预实验，保证 ΔA 的值在 0.02~1.0 范围内；若反应后为明显的悬浊液，则需稀释后再测。
3. 若样本颜色较深，可用 3-5mg 活性炭充分震荡 5min 左右再离心取上清待测。