脂氧合酶（LOX）活性测定试剂盒说明书

微量法 100T/48S

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

测定意义：

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。

测定原理：

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。

组成：

产品名称	FA016-100T/48S	Storage
试剂一：液体	100ml	4℃
试剂二：液体	20ml	4℃
试剂三：粉剂	1 支	4℃
说明书	一份	

自备仪器和用品：

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

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/酶标仪预热 30 min 以上，调节波长到 280 nm，蒸馏水调零。
2. 在试剂三中加入 10ml 试剂二（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. **对照管：**依次在微量石英比色皿/96 孔板中加入 20μl 样本和 180μl 试剂二，30℃反应 30min 后，记录 A 对照。
4. **测定管：**依次在微量石英比色皿/96 孔板中加入 20μl 样本和 180μl 试剂三，30℃反应 30min 后，记录 A 测定。

最终解释权所有 © 伊势久（江苏连云港）生物科技有限责任公司，保留一切权利

伊势久(江苏连云港)生物科技有限责任公司
江苏省连云港市海州区花果山大道 17 号
服务热线：0518-81263339
官网:http://www.bio149.com

5. 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。

LOX (U/mg prot) =ΔA×V 反总÷(Cpr×V 样)÷T×100

= **33.33**×ΔA÷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。

LOX (U/g 鲜重) =ΔA×V 反总÷(W×V 样÷V 样总)÷T×100

= **33.33**×ΔA÷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；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。

最终解释权所有 © 伊势久（江苏连云港）生物科技有限责任公司，保留一切权利