

植物中脂氧合酶 (LOX) 活性检测试剂盒

Plant Lipoxidase Assay Kit

紫外分光光度法

货号: AK242

规格: 50T/48S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
AK242-A	50mL×1 瓶	4℃保存, 含不溶性物质, 使用前混匀即可;
AK242-B	50mL×1 瓶	4℃保存;
AK242-C	粉剂×1 瓶	4℃避光保存; 临用前加入 5 mL AK242-B, 充分溶解, 滴加 0.1ml 0.2mol/L NaOH 至溶液澄清。

※ 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: 植物中脂氧合酶 (Lipoxidase, LOX) 广泛存在于植物组织中, 催化不饱和脂肪酸氧化反应, 导致膜脂过氧化。在植物的生长发育、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 234nm 处有特征吸收峰; 测定 234nm 吸光度增加速率, 来计算 LOX 活性。

自备用品:

研钵、冰、台式离心机、紫外分光光度计、1mL 石英比色皿、可调式移液枪和蒸馏水。

粗酶提取:

按照组织质量 (g) : AK242-A 体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL AK242-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. 分光光度计预热 30 min 以上, 调节波长到 234 nm, 蒸馏水调零。
2. AK242-B 在 25℃水浴中预热 30 min。
3. 在1mL 石英比色皿中依次加入下列试剂

试剂名称	空白管 (μL)	测定管 (μL)
蒸馏水	100	
AK242-B	800	
AK242-C	100	
迅速混匀后于 234nm 比色, 记录 15s 和 75s 的吸光值, 分别记为 A1 和 A2。		
上清液		100
AK242-B		800
AK242-C		100
迅速混匀后于 234nm 比色, 记录 15s 和 75s 的吸光值, 分别记为 A3 和 A4。		

注意: 空白管只需测定一次。

LOX 活性计算公式:

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 0.001 个单位为 1 个酶活单位。

LOX 活性 (U/mg prot) = [(A4-A3)-(A2-A1)]×V 反总÷(Cpr×V 样)÷T×1000

$$= 10000 \times [(A4-A3)-(A2-A1)] \div \text{Cpr}$$

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 0.001 个单位为 1 个酶活单位。

$$\text{LOX 活性 (U/g)} = [(A4-A3)-(A2-A1)] \times V \text{ 反总} \div (W \times V \text{ 样} \div V \text{ 样总}) \div T \times 1000$$

$$= 10000 \times [(A4-A3)-(A2-A1)] \div W$$

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 样: 加入反应体系中上清液体积, 100 μ L=0.1mL; V 反总: 反应总体积, 1mL; V 样总: 清液总体积, 1mL; W: 样本质量, g; T: 反应时间, 1min。

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

注意事项:

1. AK242-C 易自发氧化, 从而导致空白管测定值偏高, 必须临用前配制, 并且当天使用完毕。
2. 若反应后为明显的悬浊液, 则需稀释后再测。
3. 样品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。