

植物中脂氧合酶（LOX）活性检测试剂盒说明书

微量法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC0325

规格：100T/96S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 110 mL×1 瓶	2-8℃保存
粉剂一	粉剂×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 20 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 3mL×1 瓶	2-8℃保存

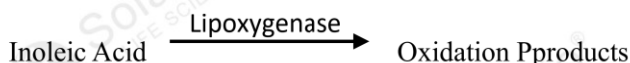
溶液的配制：

- 1、提取液：临用前将粉剂一倒入提取液中，溶液为悬浊液，使用前需摇匀。

产品说明：

脂氧合酶（Lipoxygenase, LOX）广泛存在于植物组织中，特别是黄豆种子中。LOX 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。

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。



注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。

需自备的仪器和用品：

研钵/匀浆器、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 UV 板、可调式移液枪和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

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）进行冰浴匀浆，然后 16000g，4℃，离心 20min，取上清置于冰上待测。

二、测定步骤

1. 分光光度计/酶标仪预热 30 min 以上，调节波长到 234nm，分光光度计蒸馏水调零。
2. 试剂一在 25℃水浴中预热 30min 以上。
3. 空白管：依次在微量石英比色皿/96 孔 UV 板中加入 20μL 蒸馏水、160μL 试剂一和 20μL 试剂二，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。空白管只需做 1-2 次。
4. 测定管：依次在微量石英比色皿/96 孔 UV 板中加入 20μL 上清液、160μL 试剂一和 20μL 试剂二，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。





三、LOX 活性计算

a. 使用微量石英比色皿测定的计算公式如下

1. 按蛋白浓度计算

活性单位定义：在 1mL 体系下，25°C 中每毫克蛋白每分钟催化吸光值变化 0.001 个单位为一个酶活单位。

LOX 活性 (U/mg prot) = $[(A4-A3)-(A2-A1)] \div 0.001 \div (Cpr \times V \text{ 样}) \div T \times V \text{ 反总}$ 反总 = $10000 \times [(A4-A3)-(A2-A1)] \div Cpr$

2. 按样本质量计算

活性单位定义：在 1mL 体系下，25°C 中每克样本每分钟催化吸光值变化 0.001 个单位为一个酶活单位。

LOX 活性 (U/g 质量) = $[(A4-A3)-(A2-A1)] \div 0.001 \div (V \text{ 样} \div V \text{ 样总} \times W) \div T \times V \text{ 反总}$ 反总 = $10000 \times [(A4-A3)-(A2-A1)] \div W$

Cpr: 上清液蛋白浓度, mg/mL (需另外测定); W: 样本质量, g; V 样: 加入反应体系中上清液体积, 20μL=0.02mL;

V 样总: 上清液总体积, 1mL; T: 反应时间, 1min; V 反总: 反应总体系, 0.2mL。

b. 使用 96 孔 UV 板测定的计算公式如下

1. 按蛋白浓度计算

活性单位定义：在 1mL 体系下，25°C 中每毫克蛋白每分钟催化吸光值变化 0.0006 个单位为一个酶活单位。

LOX 活性 (U/mg prot) = $[(A4-A3)-(A2-A1)] \div 0.0006 \div (Cpr \times V \text{ 样}) \div T \times V \text{ 反总}$ 反总 = $16667 \times [(A4-A3)-(A2-A1)] \div Cpr$

2. 按样本质量计算

活性单位定义：在 1mL 体系下，25°C 中每克样本每分钟催化吸光值变化 0.0006 个单位为一个酶活单位。

LOX 活性 (U/g 质量) = $[(A4-A3)-(A2-A1)] \div 0.0006 \div (V \text{ 样} \div V \text{ 样总} \times W) \div T \times V \text{ 反总}$ 反总 = $16667 \times [(A4-A3)-(A2-A1)] \div W$

Cpr: 上清液蛋白浓度, mg/mL (需另外测定); W: 样本质量, g; V 样: 加入反应体系中上清液体积, 20μL=0.02mL;

V 样总: 上清液总体积, 1mL; T: 反应时间, 1min; V 反总: 反应体系总体积, 0.2mL。

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 0.02~1.2（微量石英比色皿）/0.01~0.72（96 孔 UV 板）范围内；若反应后为明显的悬浊液，则需稀释后再测。
3. 若提取后样本匀浆液颜色过深，可加入 3-5mg 活性炭充分震荡 5min 左右再离心取上清待测。

相关发表文献:

- [1] Xu W, Yang Q, Yang F, Xie X, Goodwin PH, Deng X, Tian B, Yang L. Evaluation and Genome Analysis of *Bacillus subtilis* YB-04 as a Potential Biocontrol Agent Against *Fusarium* Wilt and Growth Promotion Agent of Cucumber. *Front Microbiol.* 2022 Jun 9;13:885430. doi: 10.3389/fmicb.2022.885430. PMID: 35756052; PMCID: PMC9218633.
- [2] Dong Q, Liu Q, Goodwin PH, Deng X, Xu W, Xia M, Zhang J, Sun R, Wu C, Wang Q, Wu K, Yang L. Isolation and Genome-Based Characterization of Biocontrol Potential of *Bacillus siamensis* YB-1631 against Wheat Crown Rot Caused by *Fusarium pseudograminearum*. *J Fungi (Basel).* 2023 May 9;9(5):547. doi: 10.3390/jof9050547. PMID: 37233258; PMCID: PMC10219336.
- [3] Xu W, Yang Q, Xie X, Goodwin PH, Deng X, Zhang J, Sun R, Wang Q, Xia M, Wu C, Yang L. Genomic and Phenotypic Insights into the Potential of *Bacillus subtilis* YB-15 Isolated from Rhizosphere to Biocontrol against Crown Rot and Promote Growth of Wheat. *Biology (Basel).* 2022 May 20;11(5):778. doi: 10.3390/biology11050778. PMID: 35625506; PMCID: PMC9138608.



- [4] Wang Z, Zhang L, Duan W, Li W, Wang Q, Li J, Song H, Xu X. Melatonin maintained higher contents of unsaturated fatty acid and cell membrane structure integrity in banana peel and alleviated postharvest chilling injury. Food Chem. 2022 Dec 15;397:133836. doi: 10.1016/j.foodchem.2022.133836. Epub 2022 Aug 1. PMID: 35933748.
- [5] Guo S, Zhao X, Ma Y, Wang Y, Wang D. Fingerprints and changes analysis of volatile compounds in fresh-cut yam during yellowing process by using HS-GC-IMS. Food Chem. 2022 Feb 1;369:130939. doi: 10.1016/j.foodchem.2021.130939. Epub 2021 Aug 25. PMID: 34469843.

相关系列产品:

- BC0590/BC0595 游离脂肪酸 (FFA) 含量检测试剂盒
- BC2340/BC2345 脂肪酶 (LPS) 活性检测试剂盒
- BC1080/BC1085 乙醇脱氢酶 (ADH) 活性检测试剂盒
- BC1070/BC1075 丙酮酸脱羧酶 (PDC) 活性检测试剂盒
- BC0620/BC0625 甘油三酯 (TG) 含量检测试剂盒
- BC1890/BC1895 游离胆固醇 (FC) 含量检测试剂盒
- BC0750/BC0755 乙醛脱氢酶 (ALDH) 活性检测试剂盒

