

400-901-9800

techsupport@bioss.com.cn

脂氧合酶活性检测试剂盒

LOX Assay Kit

紫外分光光度法

产品编号: AK484U 产品规格: 50T/24S 产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
AK483-A	50mL×1 瓶	4℃保存;
AK483-B	50mL×1 瓶	4℃保存;
AK483-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、1mL 石英比色皿、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): AK483-A体积(mL)为1: $5\sim10$ 的比例(建议称取约0.1g 组织,加入1mL AK483-A)进行冰浴匀浆。16000g,4 \mathbb{C} 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,调节波长到 280nm,蒸馏水调零。
- 2. 在 AK483-C 中加入 25mL AK483-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1mL 石英比色皿中加入)

试剂名称	对照管 (ul)	测定管 (ul)		
样本	100	100		
AK483-B	900			
AK483-C		900		
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。 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

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, 100μ L=0.1mL; V 反总: 反应总体积,1mL; V 样总: 上清液总体积,1mL; W: 样本质量,g; 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)