

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号: E-BC-K861-M

产品规格: 48T(46 samples)/96T(94 samples)

检测仪器: 酶标仪(270-290 nm)

Elabscience®脂氧合酶 (LOX) 比色法测试盒

Lipoxygenase (LOX) Activity Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话: 400-999-2100

邮箱: biochemical@elabscience.cn

网址: www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测植物样本中脂氧合酶的活力。

检测原理

脂氧合酶 (LOX) 广泛存在于植物组织中, 特别是黄豆等油脂含量较高的种子中。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 可催化亚油酸氧化, 氧化产物在 280 nm 处有特征吸收峰, 通过测定 280 nm 吸光度增加速率, 来计算 LOX 活性。

本试剂盒检测植物组织样本时, 需测定总蛋白浓度, 推荐使用本公司 BCA 试剂盒 (货号 E-BC-K168-M) 进行测定。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48T)	规格 2 (Size 2)(96T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	提取液 (Extraction Solution)	50 mL×1 瓶	50 mL×2 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	缓冲液 (Buffer Solution)	15 mL×1 瓶	30 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	底物 (Substrate)	0.1 mL×1 支	0.1 mL×1 支	2-8℃避光 保存 6 个月
	96 孔 UV 酶标板		1 板	
	96 孔覆膜		2 张	
	样本位置标记表		1 张	

说明: 试剂严格按上表中的保存条件保存, 不同测试盒中的试剂不能混用。对于体积较少的试剂, 使用前请先离心, 以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：酶标仪（270-290 nm，最佳检测波长 280 nm），恒温箱(37℃)

试剂准备

① 检测前，所有的试剂平衡至室温。

② 试剂三工作液的配制：

按照 9 μL 试剂三：1200 μL 试剂二比例，溶解混匀，2-8℃ 避光保存 3 天。

样本准备

① 样本处理

组织样本：匀浆介质为试剂一，若离心后上清液浑浊，可重复离心，取上清待用，留取部分上清进行蛋白浓度测定。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择 2-3 个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：5-339.5 U/L，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
10%毛豆种子	2-5	10%豆角种子	不稀释

注：稀释液为试剂一。

实验关键点

① 实验过程中，避免产生大量气泡。

② 尽量选择新鲜的植物种子样本。

操作步骤

- ① 空白孔：取 20 μL 双蒸水加入到空白孔中。
测定孔：取 20 μL 样本上清加入到对应测定孔中。
- ② 步骤①中各酶标孔加入 160 μL 试剂二。
- ③ 步骤②各酶标孔加入 20 μL 试剂三工作液。
- ④ 酶标仪 280 nm 处测定各孔 30 s 的 OD 值 A_1 和 1 min 30 s 的 OD 值 A_2 ，计算 $\Delta A = A_2 - A_1$ 的值大小。

操作表

	空白孔	测定孔
双蒸水 (μL)	20	--
样本上清 (μL)	--	20
试剂二 (μL)	160	160
试剂三工作液 (μL)	20	20
酶标仪 280 nm 处测定各孔 30 s 的 OD 值 A_1 和 1 min 30 s 的 OD 值 A_2 ， 计算 $\Delta A = A_2 - A_1$ 的值大小。		

本试剂盒检测植物组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用本公司 BCA 试剂盒（货号 E-BC-K168-M）进行测定。

结果计算

植物样本中脂氧合酶 LOX 酶活计算：

定义：37℃ 条件下，每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。

$$\text{LOX 活力 (U/gprot)} = \Delta A \times V_{\text{总}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div 0.01^* \div T \times f$$

注解：

ΔA ：1 min 30 s 的 OD 值 - 30 s 的 OD 值

T：孵育反应时间，1 min

C_{pr} ：样本蛋白浓度，gprot/L

0.01*：单位定义

$V_{\text{总}}$ ：发应体系总体积，0.2 mL

$V_{\text{样}}$ ：加样体积，0.02 mL

f：样本加入检测体系前的稀释倍数

附录 1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	5-339.5 U/L	平均批间差	5 %
灵敏度	5 U/L	平均批内差	4 %
平均回收率	99 %		

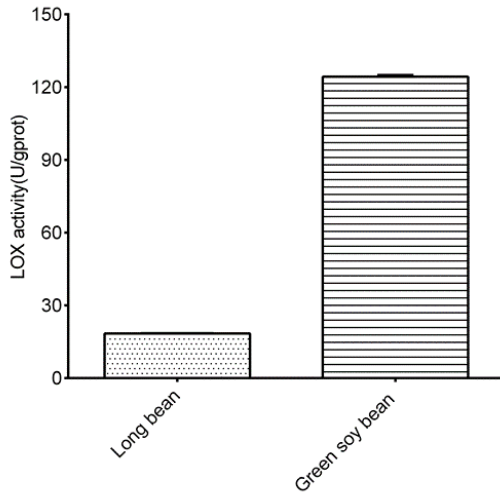
附录 2 实例分析

例如检测毛豆种子样本（数据仅供参考）：

取稀释 2 倍的 10% 的毛豆种子样本 20 μL ，按说明书操作表操作，结果如下：30 s 的 OD 值为 1.100，1 min 30 s 的 OD 值为 1.510，10% 组织匀浆蛋白浓度为 13.18 gprot/L，计算酶活为：

$$\text{LOX 活力 (U/gprot)} = (1.510 - 1.100) \times 0.2 \div (13.18 \div 2) \div 0.02 \div 0.01 \div 1 \times 2 = 124.43 \text{ U/gprot}$$

按照说明书操作，测定 10% 毛豆种子样本（10% 组织蛋白浓度为 13.18 gprot/L，稀释 2 倍，加样量 20 μL ），10% 豆角种子样本（10% 组织蛋白浓度为 7.96 gprot/L，加样量 20 μL ）中的脂氧合酶活力(如下图所示)：



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
复孔差较大	加样过程产生气泡	缓慢加样，检测前吹打气泡
	样本浓度较大	将样本进行适当稀释

声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。