

脂氧合酶（LOX）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1139

保存：-20℃避光保存 12 个月

规格：48T/96T

适用样本：动物组织、细胞、真菌、细菌

产品简介

脂氧合酶（Lipoxygenase, LOX）是一种氧合酶，广泛存在于生物体内，如植物、动物、藻类、真菌、面包酵母、氰细菌等。LOX 催化不饱和脂肪酸氧化反应，导致膜脂过氧化。LOX 在植物的生长、发育、成熟、衰老和防御过程中具有重要作用。在动物中，LOX 主要参与炎症反应重要调节分子如白三烯、前列腺素等的形成。本试剂盒可检测生物体内 LOX 活性，其原理是：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。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48 T	96 T	
提取液	50mL	100mL	4℃ 保存
反应缓冲液	10mL	20mL	4℃ 保存
底物	1	1	-20℃ 保存

自备耗材

酶标仪或紫外分光光度计（能测 280nm 处的吸光度）
恒温箱、制冰机、低温离心机
96 孔 UV 微孔板或微量石英比色皿、可调节式移液枪及枪头
去离子水
匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

提取液：即用型悬浊液，使用前需摇匀，平衡到室温；4℃ 保存。
反应缓冲液：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 保存。
底物：48T 在底物瓶中加入 9mL 反应缓冲液，96T 在底物瓶中加入 18mL 反应缓冲液（振荡混匀 1min）。用不完的试剂分装-20℃ 保存，避免反复冻融。

样本制备

动物组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，冰浴匀浆，16,000g，4℃ 离心 20min，取上清液，置冰上待测。
细胞或细菌：收集 500 万细胞到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞，离心后弃上清，加入 1mL 提取液，冰浴超声波破碎细胞 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），然后 16,000g，4℃ 离心 20min，取上清液，置冰上待测。
注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃ 保存 1 个月。对于脂肪含量较高的动物组织，离心后移除上层脂肪，再取上清液。如需测定蛋白浓度，推荐使用 Bradford 法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

产品说明书

1. 酶标仪或紫外分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 280nm。紫外分光光度计去离子水调零。
2. 底物溶液 25℃ 预热 15min 以上。
3. 在 96 孔 UV 微孔板或微量石英比色皿中依次加入 20 μL 样本和 180 μL 底物溶液，迅速混匀后测定 280nm 处吸光值 A，记录 10s 和 70s 的吸光值，分别记为 A₁ 和 A₂，计算 $\Delta A = A_2 - A_1$ 。

注意：1. 实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果 ΔA 小于 0.001 可适当加大样本量。如果 ΔA 大于 1.0，样本可用提取液进一步稀释（计算结果乘以稀释倍数），或减少提取用样本量。

2. 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。若反应后为明显的悬浊液，则需稀释后再测。

结果计算

A. 使用 96 孔板测定的计算公式

1. 按照蛋白浓度计算

活性单位定义：25℃ 中每 mg 蛋白在反应体系中每分钟催化吸光值变化 0.005 个单位为 1 个酶活单位。

$$LOX (U/mg \text{ prot}) = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div 0.005 \div (Cpr \times V_{\text{样}}) \div T = 2000 \times \Delta A \div Cpr$$

2. 按照样本质量计算

活性单位定义：25℃ 中每克组织在反应体系中每分钟催化吸光值变 0.005 个单位为 1 个酶活单位。

$$LOX (U/g \text{ 鲜重}) = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div 0.005 \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 2000 \times \Delta A \div W$$

3. 按细胞数量计算

活性单位定义：25℃ 中每 10⁴ 个细胞在反应体系中每分钟催化吸光值变 0.005 个单位为 1 个酶活单位。

$$LOX (U/10^4 \text{ cells}) = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div 0.005 \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times 500) \div T = 4 \times \Delta A$$

B. 使用微量石英比色皿测定的计算公式

1. 按照蛋白浓度计算

活性单位定义：25℃ 中每 mg 蛋白在反应体系中每分钟催化吸光值变化 0.01 个单位为 1 个酶活单位。

$$LOX (U/mg \text{ prot}) = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div 0.01 \div (Cpr \times V_{\text{样}}) \div T = 1000 \times \Delta A \div Cpr$$

2. 按照样本质量计算

活性单位定义：25℃ 中每克组织在反应体系中每分钟催化吸光值变 0.01 个单位为 1 个酶活单位。

$$LOX (U/g \text{ 鲜重}) = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div 0.01 \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = 1000 \times \Delta A \div W$$

3. 按细胞数量计算

活性单位定义：25℃ 中每 10⁴ 个细胞在反应体系中每分钟催化吸光值变 0.01 个单位为 1 个酶活单位。

$$LOX (U/10^4 \text{ cells}) = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div 0.01 \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times 500) \div T = 2 \times \Delta A$$

V_{反应}：反应体系总体积，0.2mL；Cpr：蛋白浓度，mg/mL；V_样：加入上清液体积，0.02 mL；T：反应时间，1 min；W：样品质量，g；V_{样总}：提取液体积，1mL；500：细胞总数，500 万。

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

- PMK1142 甘油三酯 (TG) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1143 总胆固醇 (TC) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1144 游离胆固醇 (FC) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1137 游离脂肪酸 (FFA) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1151 血清高密度脂蛋白 (HDL-C) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1152 血清低密度脂蛋白 (LDL-C) 检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解，请关注公众号：

