

植物过氧化物酶(POD)检测试剂盒(愈创木酚比色法)

产品简介：

过氧化物酶(peroxidase, POD)是以过氧化氢为电子受体催化底物氧化的酶，主要存在于细胞的过氧化物酶体中，以铁卟啉为辅基，可催化过氧化氢，氧化酚类和胺类化合物，具有消除过氧化氢和酚类、胺类毒性的双重作用，该酶属于细胞木质素合成途径中间的关键酶，研究该酶可以探讨多种生物细胞发育过程中木质素沉积的代谢机理，为减少水果石细胞含量提高其品质提供依据。

Leagene 植物过氧化物酶(POD)检测试剂盒(愈创木酚比色法)检测原理是以愈创木酚(又称 2-甲氧基酚)作为底物，在酶促反应的最适条件下采用每隔一定时间测定产物生成量的方法，于分光光度计 470nm 处测定吸光度，以吸光度变化所需酶量进行计算，主要用于植物组织的裂解液或匀浆液、血清等样品中内源性的过氧化物酶活性，尤其适用于测定水果中过氧化物酶活性。该试剂盒仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成：

| 名称 | 编号 | TE0425 50T | Storage |
|-------------------------|----|---------------|---------|
| 试剂(A): POD Lysis Buffer | | 250ml | 4°C |
| 试剂(B): POD Assay Buffer | | 100ml | 4°C 避光 |
| 试剂(C): POD 氧化剂 | | 4ml | 4°C 避光 |
| 试剂(D): POD 终止液 | | 5ml | RT 避光 |
| 使用说明书 | | 1 份 | |

自备材料：

- 蒸馏水
- 研钵或匀浆器、离心管、低温离心机、水浴锅或恒温箱、分光光度计、比色杯

操作步骤(仅供参考)：

1、准备样品：

①植物样品：取 0.5-1.0g 植物组织或水果中层果肉加入 4ml 预冷的 POD Lysis Buffer 研磨或匀浆，离心 15~20min，留取上清液，即为 POD 粗提液，-20°C 冻存，用于过氧化物酶的测定。

②血浆、血清和尿液样品：血浆、血清按照常规方法制备后可以直接用于该试剂盒的测定，-20°C 冻存，用于过氧化物酶的测定。

- ③细胞或组织样品：取恰当细胞或组织裂解液，如有必要用 POD Lysis Buffer 进行适当匀浆，离心 15~20min，留取上清液，即为 POD 粗提液，-20℃冻存，用于过氧化物酶的测定。
- ④高活性样品：如果样品中含有较高活性的过氧化物酶，可以使用 POD Lysis Buffer 进行恰当的稀释。
- 2、配制 POD Assay Buffer 工作液：取适量的 POD 氧化剂和 POD Assay Buffer，按 POD 氧化剂：POD Assay Buffer=1：14 混合，即为 POD Assay Buffer 工作液，即配即用，不宜久置。
- 3、POD 加样：按照下表设置对照管、测定管，注意：对照管、测定管中为同一待测样品，但对照管中为提前加热煮沸 5min 的样品；溶液应按照顺序依次加入，并注意避免产生气泡，如果样品中的 POD 活性过高，可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定，样品的检测最好能设置 2 平行管，求平均值。

| 加入物(ml) | 对照管 | 测定管 |
|----------------------|-----------------|------|
| 待测样品 | 0.05(提前煮沸 5min) | 0.05 |
| POD Lysis Buffer | 1.45 | 1.45 |
| POD Assay Buffer 工作液 | 1 | 1 |

- 4、POD 测定：以对照管为对照(调零)，比色杯光径 1.0cm，立即分光光度计测定 470nm 处测定管的吸光度(记为 $A_{\text{测定}0}$)；37℃准确孵育，立即加入 0.05ml POD 终止液终止反应(备选方案)，立即分光光度计测定 470nm 处测定管的吸光度(记为 $A_{\text{测定}1}$)。注意：加入 POD 终止液终止反应不是必须步骤，可 37℃准确孵育后直接以对照管为对照(调零)，分光光度计测定 470nm 处测定管的吸光度(记为 $A_{\text{测定}1}$)。

计算：

POD 活性单位的定义：在该实验条件下，每 1min 吸光度变化 0.01 所需酶量为一个活性单位。

$$\text{组织样本 POD(U)} = \{(A_{\text{测定}1} - A_{\text{测定}0}) \times V_T\} / (W \times V_S \times 0.01 \times t)$$

$$\text{液体样本 POD(U)} = (A_{\text{测定}1} - A_{\text{测定}0}) / (0.01 \times t)$$

式中： $A_{\text{测定}1}$ = 孵育 3min 后测定管的吸光度

$A_{\text{测定}0}$ = 加入 POD Assay buffer 工作液后立即测定管的吸光度

W = 组织样本的重量(g)

V_T = 提取酶液的总体积(ml)

V_S = 测定时所用酶液体积(ml)

t = 反应时间(min) = 3

注意事项:

- 1、待测样品中不能含有酶抑制剂，同时需避免反复冻融。
- 2、POD 酶液提取时注意低温操作，防止酶活性。
- 3、以煮沸的酶液为对照时，酶要充分失活。
- 4、POD 氧化剂和 POD 终止液具有一定腐蚀性，请小心操作。
- 5、POD 氧化剂易挥发，请密闭保存，否则检测效率下降。
- 6、如果没有分光光度计，也可以使用普通的酶标仪测定，每次检测指标不宜过多，否则操作时间不一，有可能导致样本间的差异。
- 7、试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。
- 8、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期: 6 个月有效；低温运输，按要求保存。