



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

植物过氧化物酶(POD)检测试剂盒(愈创木酚微板法)

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。

源叶生物 植物过氧化物酶(POD)检测试剂盒(愈创木酚微板法)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, 于酶标仪 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。

组成:

名称 \ 编号	R30311 100T	Storage
试剂(A): POD Lysis Buffer	2×250ml	4℃
试剂(B): POD Assay Buffer	10ml	4℃ 避光
试剂(C): POD 氧化剂	1ml	4℃
试剂(D): POD 终止液	1ml	RT 避光
使用说明书	1 份	

自备材料:

- 1、蒸馏水、研钵或匀浆器、离心管



2、低温离心机、水浴锅或恒温箱

3、96 孔板、酶标仪

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, 4℃ 10000g 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。

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℃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, 4℃ 10000g 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: 取 96 孔板, 按照下表设置对照孔孔、测定孔, 注意: 对照孔、测定孔中为同一待测样品, 但对照孔中是提前加热煮沸 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 平行孔, 求平均值。

加入物(μl)	对照孔	测定孔
待测样品	5(提前煮沸 5min)	5
POD Lysis Buffer	145	145
POD Assay Buffer 工作液	100	100

4、POD 测定: 立即以酶标仪, 以对照孔为对照, 测定 470nm 处测定孔的吸光度($A_{\text{测定}0}$); 37℃准确孵育 3min 后, 立即加入 5μl POD 终止液终止反应(备



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

选方案), 以对照孔为对照, 以酶标仪测定 470nm 处测定孔的吸光度($A_{\text{测定1}}$)。注意: 加入 POD 终止液终止反应不是必须步骤, 可 37°C 准确孵育 3min 后, 以对照孔为对照, 直接以酶标仪测定 470nm 处测定孔的吸光度($A_{\text{测定1}}$)。

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。

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

式中: $A_{\text{测定1}}$ = 孵育 3min 后测定孔的吸光度值

$A_{\text{测定0}}$ = 加入 POD Assay buffer 工作液后测定孔的吸光度值

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

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

式中: $A_{\text{测定1}}$ = 孵育 3min 后测定孔的吸光度值

$A_{\text{测定0}}$ = 加入 POD Assay buffer 工作液后立即测定的测定孔吸光度值

t = 反应时间

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、如果没有酶标仪, 也可以使用普通的分光光度计测定, 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、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; 常温运输, 4°C 保存。