

植物过氧化物酶（POD）检测试剂盒（愈创木酚比色法）

产品货号：BA1775

产品规格：50T

产品简介：

过氧化物酶(peroxisome, 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。

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，该试剂盒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，不宜用于临床诊断或其他用途。

产品组成：

| 试剂名称 | 50T | 保存条件 |
|-------------------------|-------|---------|
| 试剂(A): POD Lysis buffer | 250ml | 2-8℃ |
| 试剂(B): POD Assay buffer | 100ml | 2-8℃，避光 |
| 试剂(C): POD 氧化剂 | 4ml | 2-8℃ |
| 试剂(D): POD 终止液(备选) | 5ml | 室温，避光 |

自备材料：

1. 蒸馏水
2. 研钵或匀浆器
3. 离心管
4. 低温离心机
5. 水浴锅或恒温箱
6. 分光光度计、比色杯

操作步骤：

1. 准备样品：
 - ①植物样品：取2g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本试剂盒的测定，-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:



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

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3min后，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3min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。

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

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(min) = 3

注意事项：

- 待测样品中不能含有酶抑制剂，同时需避免反复冻融。
- POD酶液提取时，注意低温操作，防止酶活性。
- 以煮沸的酶液为对照时，酶要充分失活。
- POD氧化剂和POD终止液具有一定腐蚀性，请小心操作。
- POD氧化剂易挥发，请密闭保存，否则检测效率下降。
- 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。
- 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℃保存。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

QQ：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com