

植物过氧化物酶 (POD) 检测试剂盒 (愈创木酚微板法)

产品货号: BA1774

产品规格: 100T

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	100T	保存条件
试剂(A): POD Lysis buffer	2×250ml	2-8℃
试剂(B): POD Assay buffer	10ml	2-8℃, 避光
试剂(C): POD 氧化剂	1ml	2-8℃

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. 96孔板、酶标仪

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=1:14混合, 即为POD Assay buffer工作液, 即配即用, 不宜久置。



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

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。溶液应按照规定顺序依次加入，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 (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($A_{\text{测定0}}$)。

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

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

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

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

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：

- 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。
- 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