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(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，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:

编号 / 名称	GCTE0425 50T	Storage
试剂(A): POD Lysis Buffer	250ml	4℃
试剂(B): POD Assay Buffer	100ml	4℃ 避光
试剂(C): POD 氧化剂	4ml	4℃ 避光
试剂(D): POD 终止液(备选)	5ml	RT 避光
使用说明书	1 份	

自备材料:

1、蒸馏水

2、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，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：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 $A_{测定0}$)；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 $A_{测定1}$)。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 $A_{测定1}$)。

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)=$\{(A_{测定1}-A_{测定0})\times V_T\}/(W\times V_S\times 0.01\times t)$

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

式中：$A_{测定1}$=孵育 3min 后测定管的吸光度

$A_{测定0}$=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。

相关产品:

产品编号	产品名称
GCCC0007	磷酸缓冲盐溶液(10×PBS,无钙镁)
GCCM0004	LB 培养基
GCDC0032	Masson 三色染色液
GCDP0013	GUS 染色液(即用型)
GCNR0001	DEPC 处理水(0.1%)
GCPS0013	RIPA 裂解液(强)
GCTC1167	尿素(Urea)检测试剂盒(脲酶波氏比色法)

