CheKine™ 过氧化物酶（POD）活性检测试剂盒（测植物）（愈创木酚法）

货号: KTB1153　　规格: 48 T/48 S　96 T/96 S　　批号：见产品标签

	适用样本：植物组织
	保质期：4℃，避光保存 24 个月

01 背景与原理

过氧化物酶，POD（EC 1.11.1.7）是一类氧化还原酶，可分布于过氧化物酶体、胞质、线粒体、内质网、溶酶体及植物细胞壁等多种细胞器和部位。它们能以过氧化氢为电子受体催化底物氧化，同时将 H_2O_2 还原为水，可催化氧化某些酚类、胺类和醛类，以及某些烃类氧化产物，因而既有助于清除过氧化氢，也参与酚类、胺类、醛类等物质的代谢转化和解毒。

本试剂盒检测原理是 POD 催化 H_2O_2 氧化愈创木酚生成红棕色至茶褐色物质，通过测定 470 nm 处吸光度的变化即可计算出样本中 POD 的活性。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Reagent Ⅰ	11 mL	22 mL	4℃
Reagent Ⅱ	0.6 mL	1.2 mL	4℃，避光保存
Reagent Ⅲ	0.1 mL	0.2 mL	4℃，避光保存

***请在实验前检查各组分的量。**

***各组分在规格基础上额外提供 10%的量用于进行标准曲线制作或预实验。**

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 470 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	1×PBS（pH 7.4）	样本制备及稀释用
其他	匀浆器（组织样本）、恒温箱、制冰机、低温离心机、可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有助于提高实验效率

04 注意事项

- **正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。**
- 对于组织样本及细胞样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，**请在实验全程做好生物安全防护**，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Reagent Ⅰ	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Reagent Ⅱ	即用型；使用前平衡到室温	4℃避光保存
Reagent Ⅲ	即用型；使用前平衡到室温	4℃避光保存

05-2 样本制备

注意：推荐使用新鲜样本。样本尽量新鲜提取，如果不能当天提取，则把分装的组织块保存在-80℃，一个月内使用。测定过程中样本在冰上放置，以免变性和失活。

- **植物组织**：称取约 0.1 g 组织样本，加入 1 mL 1×PBS（pH 7.4），使用预冷好的研磨仪冰浴匀浆（推荐参数：加入 2-3 颗 4 mm 钢珠，55 Hz，匀浆 30 s，间隔 10 s，重复 6 次），然后 8000 g，4℃离心 10 min，取上清置于冰上待测。

05-3 实验步骤

1. **酶标仪准备**：预热 30 min 以上，调节波长到 470 nm。
2. **工作液的配制**：临用前配制，现配现用。对于 96 孔板，每孔配制 190 μL 工作液。吸取 179 μL Reagent Ⅰ，10 μL Reagent Ⅱ，1 μL Reagent Ⅲ充分混匀。
3. **检测体系配制**：96 孔板中依次加入 10 μL 样本和 190 μL 工作液，**在 5 min 内完成全部加样操作不会影响检测结果。**检测量大时，建议使用多通道移液器操作以提高加样速度。
4. **吸光度检测**：迅速混匀后，室温（25℃）避光静置 3 min；静置结束后立即于 470 nm 处读取吸光值 A_1（作为 0 min）；继续避光静置 1 min 后，于 470 nm 处读取吸光值 A_2（1 min）。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧**二维码**或访问官网[**https://www.abbkine.cn**]**>**进入“**技术中心**”**>**查找“**在线计算器**”**工具**。

06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算$\Delta A_{测定}=A_2-A_1$。

2. 样本 POD 活性计算

- 按样本质量计算

单位定义：每 g 组织在每 mL 反应体系中每分钟 A470 变化 0.005 为一个酶活力单位。

$POD\ (U/g)=\Delta A_{测定}\times V_{反总}\div(W\div V_{样总}\times V_{样})\div 0.005\div T=\mathbf{4000\times\Delta A_{测定}\div W}$

- 按样本蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白在每 mL 反应体系中每分钟 A470 变化 0.005 为一个酶活力单位。

$POD\ (U/mg\ prot)=\Delta A_{测定}\times V_{反总}\div(Cpr\times V_{样})\div 0.005\div T=\mathbf{4000\times\Delta A_{测定}\div Cpr}$

$V_{反总}$：反应体系总体积，0.2 mL；$V_{样}$：加入样本体积，0.01 mL；$V_{样总}$：样本处理时加入 1×PBS (pH 7.4)的体积，1 mL；W：样品质量，g；T：反应时间，1 min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL。

07 结果展示

示例-1：取 0.114 g 玉米组织，按照测定步骤操作，用 96 孔板进行检测。测得$\Delta A_{测定}=A_2-A_1=0.938-0.806=0.132$。按样本质量计算得：$POD\ (U/g)=4000\times\Delta A_{测定}\div W=4000\times 0.132\div 0.114=4631.58$ U/g。

08 FAQ

- **检测得到的样本$\Delta A_{测定}$过高或者过低怎么办?**

如果样本$\Delta A_{测定}>0.4$ 或 $A_1>2.0$，则说明样本 POD 活性太高，需用 1×PBS（pH 7.4）适当稀释，再重新进行测定。如果样本的$\Delta A_{测定}<0.01$，可适当增加样本量，再重新进行测定。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB1010	CheKine™ 辅酶Ⅱ $NADP^+$/NADPH 含量检测试剂盒（微量法）
KTB1020	CheKine™ 辅酶Ⅰ NAD^+/NADH 含量检测试剂盒（微量法）
KTB1400	CheKine™ 一氧化氮（NO）含量检测试剂盒（微量法）
KTB1100	CheKine™ 乳酸含量检测试剂盒（微量法）
KTB1154	CheKine™ 过氧化物酶（POD）活性检测试剂盒（测动物组织/血液）（ABTS 法）

CheKine™ 过氧化物酶（POD）活性检测（愈创木酚法）流程示意图

（Abbkine 货号：KTB1153）

样本处理



称取约0.1 g组织样本，加入1 mL 1×PBS（pH 7.4），使用预冷好的研磨仪冰浴匀浆



8000 g，4℃离心10 min，取上清置于冰上待测



体系配置

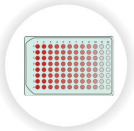
工作液：　每孔190 μL
Reagent Ⅰ　179 μL
Reagent Ⅱ　10 μL
Reagent Ⅲ　1 μL
临用前配制，现配现用



样本　10 μL
工作液　190 μL
迅速混匀后，室温（25℃）避光静置3 min

静置结束后立即于470 nm处读取吸光值A_1（作为0 min）

数据检测



继续避光静置1 min后，于470 nm处读取吸光值A_2（1 min）
结果计算

V1.0