（本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断！）

产品货号：E-BC-K227-M

产品规格：48T(24 samples)/96T(48 samples)

检测仪器：酶标仪(410-430 nm)

Elabscience®过氧化物酶(POD)比色法测试盒

（测植物）

Peroxidase (POD) Activity Assay Kit (Plant Samples)

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100

邮箱：biochemical@elabscience.cn

网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测植物组织中的过氧化物酶(POD)活力，不适用于血清(浆)。

检测原理

利用过氧化物酶(POD)催化过氧化氢分解为水和氧气，氧气氧化焦性没食子酸形成黄色产物的原理，通过测定 420 nm 处吸光度(OD 值)的变化得出其酶活性。

本试剂盒检测植物样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用考马斯亮蓝法(货号 E-BC-K168-M)。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	30 mL×1 瓶	60 mL×1 瓶	2-8°C 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	显色剂 (Chromogenic Agent)	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8°C 避光 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	基质液 (Substrate Solution)	1 mL×1 支	1 mL×1 支	2-8°C 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	终止液 (Stop Solution)	10 mL×1 瓶	20 mL×1 瓶	2-8°C 保存 6 个月
	96 孔酶标板	48 孔×1 块	96 孔×1 块	无要求
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：酶标仪(410-430 nm，最佳检测波长 420 nm)，恒温箱(37°C)

试剂：PBS (0.01 M, pH 7.4)或生理盐水(0.9% NaCl)

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温。

② 试剂二应用液的配制：

取一瓶试剂二加入8.75 mL双蒸水溶解，2-8°C避光保存1个月。

③ 试剂三应用液的配制：

临用前将试剂三：双蒸水按1: 24的体积混匀，按需配制，2-8°C保存7天。

④ 试剂四应用液的配制：

临用前将试剂四：双蒸水按1: 1的体积混匀即可，按需配制，2-8°C保存7天。

样本准备

① 样本处理

植物组织样本：植物组织匀浆介质为 PBS (0.01 M，pH 7.4)或生理盐水(0.9% NaCl)，匀浆后，离心取上清液待测，留取部分上清进行蛋白浓度测定。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.01-100 U/mgprot，可参考下表进行稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
10%青椒组织	不稀释	10%绿萝组织	不稀释
10%香葱组织	不稀释	10%香菇组织	不稀释
10%石楠叶组织	不稀释	10%白萝卜组织	不稀释

注：稀释液为 PBS (0.01 M, pH 7.4)或生理盐水(0.9% NaCl)。

实验关键点

① 严格控制反应时间。

② 实验过程全程避光，以免出现复孔差大的情况。

③ 取上清液时，用移液器吸取上清液加入酶标板测定孔中，避免沉淀影响 OD 值。

④ 离心后在 30 min 之内测完 OD 值。

⑤ 测定孔 OD 值大于 0.7 时，样本需稀释后重新测定。

操作步骤

① 测定管：向 1.5 mL EP 管中加入 380 μL 试剂一；
对照管：向 1.5 mL EP 管中加入 380 μL 试剂一。

② 向步骤①各管加入 90 μL 试剂二应用液。

③ 向步骤②测定管中加入 110 μL 试剂三应用液，对照管中加入 110 μL 双蒸水。

④ 向步骤③各管中加入 20 μL 样本，混匀，37°C 准确孵育 30 min。

⑤ 向步骤④各管中加入 200 μL 试剂四应用液，混匀，2300 × g 离心 10 min。

⑥ 吸取步骤⑤中测定管和对照管上清液 300 μL 加到酶标板对应孔内。酶标仪 420 nm 波长下测定各孔 OD 值。

操作表

	对照管	**测定管**
试剂一(μL)	380	380
试剂二应用液(μL)	90	90
试剂三应用液(μL)	--	110
双蒸水(μL)	110	--
待测样本(μL)	20	20
混匀，37°C 准确孵育 30 min		
试剂四应用液(μL)	200	200
混匀，2300 × g 离心 10 min，吸取上清液 300 μL 加入酶标板中，使用酶标仪在 420 nm 处测定各孔 OD 值。		

本试剂盒检测组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用考马斯亮蓝法（货号：E-BC-K168-M）。

结果计算

植物组织样本中过氧化物酶(POD)活力计算公式：

定义：在 37°C 条件下，每毫克组织蛋白每分钟催化 1 μg 底物的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{POD 活力 (U/mgprot)} = \frac{\Delta A}{12^{*}\times 1} \times \frac{V_1}{V_2} \div t \div (C_{pr} \div f) \times 1000^{*}$$

注解：

ΔA：样本测定 OD 值-样本对照 OD 值

1：酶标板中加入体积为 300 μL 时对应的比色光径，1 cm

V_1：反应总体积，800 μL

V_2：加入反应体系的样本量，20 μL

t：反应时间，30 min,

C_{pr}：待测样本的蛋白浓度(mgprot/mL)

f：样本加入检测体系前的稀释倍数

1000*：单位换算(1000 μg=1 mg)

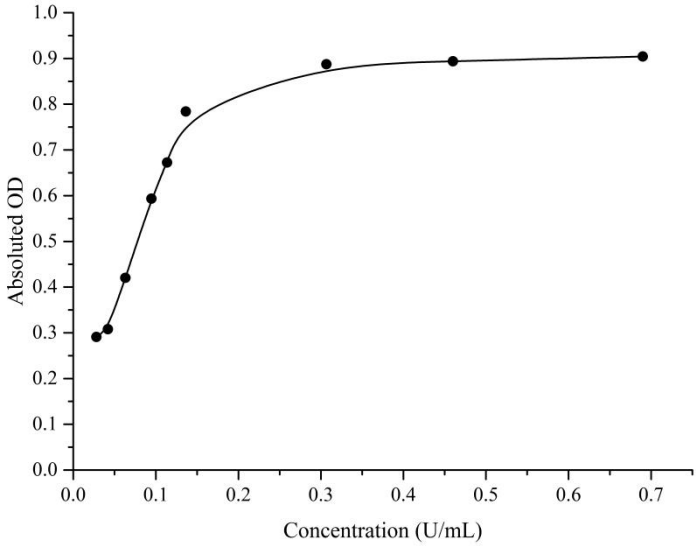
12*：吸收系数

附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	0.01-100 U/mL	平均批间差	5.0 %
灵敏度	0.01 U/mL	平均批内差	3.2 %
平均回收率	102 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)



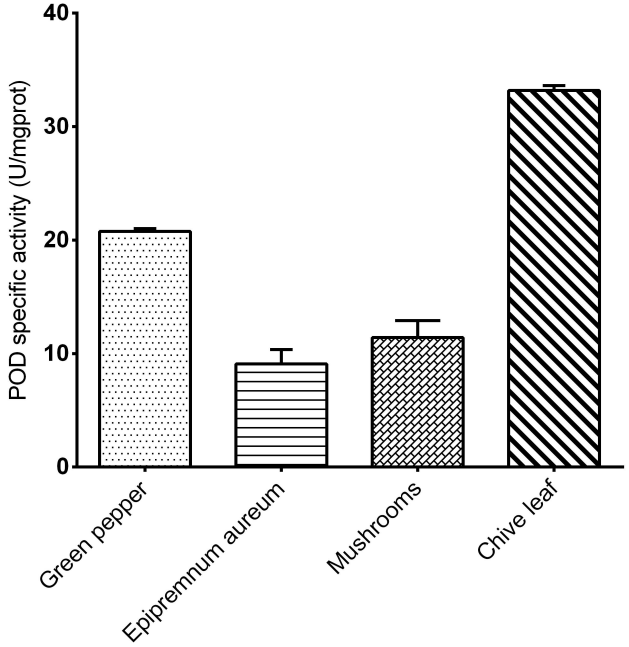
附录2 实例分析

例如检测青椒组织(数据仅供参考)：

取10%青椒组织匀浆上清液20 μL，按操作表操作。结果如下：对照孔OD值为0.171，测定孔OD值为0.578，绝对OD值为0.406，蛋白含量为2.18 mgprot/mL。计算结果为：

$$\text{POD 活力 (U/mgprot)} = \frac{0.406}{12\times1} \times \frac{0.8}{0.02} \div 30 \div (2.18 \div 1) \times 1000 = 20.69\ \text{U/mgprot}$$

按说明书操作，测定青椒组织(10%匀浆蛋白含量为2.18 mgprot/mL，加样量为20 μL)、绿萝组织(10%匀浆蛋白含量为1.21 mgprot/mL，加样量为20 μL)、香菇组织(10%匀浆蛋白含量为1.33 mgprot/mL，加样量为20 μL)和香葱组织(10%匀浆蛋白含量为2.12 mgprot/mL，加样量为20 μL) 中的POD活力(如下图)：



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
复孔差异大	实验操作过程未避光	操作过程尽量将反应 EP 管避光处理
	反应体系混匀程度差别较大	混匀时间尽量保持一致
样本测量值低	样本失活	选择新鲜样本，重新检测
	样本稀释倍数太大	选择合适稀释倍数，重新检测
样本测定结果偏高	上清液浑浊	将浑浊上清液离心后测定
	未及时测量	离心结束后必须在 30 min 内测量完毕

声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。

附录4 客户发表文献

1. Tian J, Wang L, Hui S, et al. Cadmium accumulation regulated by a rice heavy-metal importer is harmful for host plant and leaf bacteria[J]. Journal of Advanced Research, 2023, 45: 43-57.

2. Chen D, Shi Y, Zhang P, et al. Deletion of the sugar importer gene OsSWEET1b accelerates sugar starvation-promoted leaf senescence in rice[J]. Plant Physiology, 2024, 195(3): 2176-2194.

3. Yue Z, Chen Y, Wang Y, et al. Halotolerant Bacillus altitudinis WR10 improves salt tolerance in wheat via a multi-level mechanism[J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 941388.

4. Ismail A, Gajjar P, Park M, et al. A recessive mutation in muscadine grapes causes berry color-loss without influencing anthocyanin pathway[J]. Communications Biology, 2022, 5(1): 1012.

5. Pernis M, Salaj T, Bellová J, et al. Secretome analysis revealed that cell wall remodeling and starch catabolism underlie the early stages of somatic embryogenesis in Pinus nigra[J]. Frontiers in Plant Science, 2023, 14: 1225424.

6. Sun J, Lu L, Liu J, et al. Metabolomics and WGCNA Analyses Reveal the Underlying Mechanisms of Resistance to Botrytis cinerea in Hazelnut[J]. Genes, 2024, 16(1): 2.