

## 过氧化物酶 Peroxidase POD

过氧化物酶是由微生物或植物所产生的一类氧化还原酶,分子量范围 35000~100000D, 目前已知基因序列的过氧化物酶约有 6000 多种, 过氧化物酶是以过氧化氢和其它过氧化物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

底物+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>→氧化后产物+2H<sub>2</sub>O

辣根过氧化物酶 horseradish peroxidase;HRP

过氧化物酶的一种,是一种糖蛋白,由于在辣根中该酶的含量很高,故名。它以铁卟啉为辅基,在过氧化氢存在时能催化底物发生氧化反应。

### 辣根过氧化物酶 (HRP) 优点:

HRP 辣根过氧化物酶是最常见的酶促发光或显色的交联酶,由于 HRP 比活高、特异性更强、分子量小 (40kD)、稳定和作用底物范围广的优点而得到广泛使用。

- ★ 分子量 (40000), 不会遮盖抗原的结合部位
- ★ 稳定, 易获得较高纯度酶
- ★ 具有较高活性及特异性
- ★ 可溶性佳, 生成的产物不扩散
- ★ 组织中内源性酶较少
- ★ 可作用于多种底物, 产生不同颜色
- ★ HRP 穿透力强, 易进入细胞内

### HRP 的底物

HRP 的底物种类有不少, 主要可以分为化学发光底物和生色底物 2 大类:

前者灵敏度很高——随着各大厂家努力开发研制灵敏度更高的发光底物, 化学发光法的灵敏度已经达到 pg 级别, 甚至还有 Femto 级别的, 灵敏度超过了同位素; 而后者由于直接显色而操作简便且成本低。

对于底物的选择, 主要考虑的是灵敏度、背景和使用的方便性和稳定性——比如底物可溶性高使用就比较方便; 对于 WB 来说产物不可溶有助于信号在原位的积累和结果的稳定 (产物可溶的底物更适合于 Elisa)

化学发光底物主要考虑的是: 发光信号强弱——发光信号当然越强越好, 强发光信号持续的时间——也是越长越好, 还有就是背景低灵敏度高。

### HRP 生色底物类

底物显色主要是利用底物在有 HRP 和过氧化氢的存在下失去电子而呈现出颜色变化积累这一过程来检测。底物被氧化后, 迅速改变溶液颜色, 或通过聚合等反应, 生成不溶性有色颗粒, 并就地原位沉淀。

底物及其特点

酶+底物→酶·底物→酶+产物 (有色底物)。。。显色

HRP 的底物:

HRP 的底物为低浓度的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 供氢体为胺类及酚类化合物。

HRP 的生色底物显色有 DAB, 4-CN, CN/DAB, AEC 和 TMB 等