

过氧化物酶(POD)活性检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1106

产品规格：100管/96样

产品简介：

POD (EC1.11.1.7) 广泛存在于动物、植物、微生物中，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。POD 在有过氧化氢存在的情况下，能使愈创木酚发生氧化，生成茶褐色物质，该物质在 470nm 有最大光吸收。

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 110mL×1 瓶	2-8°C
试剂一	液体 20mL×1 瓶	2-8°C
试剂二	液体 0.04mL×1 瓶	2-8°C
试剂三	液体 3mL×1 瓶	2-8°C

溶液的配制：

1. 试剂二：液体置于试剂瓶内EP管中，使用前需先离心。
2. 试剂二工作液：取0.01mL试剂二加入3.2 mL试剂一混合备用（约106T），现配现用，也可根据样本量按比例配制。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

操作步骤 (仅供参考)：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 细菌、细胞或组织样品的制备：

细菌或培养细胞：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照细菌或细胞数量（ 10^4 个）：提取液体积（mL）为 500~1000：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液），超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；8000g 4°C 离心 10min，取上清，置冰上待测。

组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液），进行冰浴匀浆。8000g 4°C 离心 10min，取上清，置冰上待测。

2. 血清（浆）样品：直接检测。

二、测定步骤

1. 分光光度计或酶标仪预热30min以上，调节波长至470nm，蒸馏水调零。
2. 测定前将试剂一、试剂二工作液和试剂三37°C（哺乳动物）或25°C（其它物种）放置10min以上。
3. 样本测定表

试剂名称（ μ L）	测定管
试剂一	120



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

试剂二工作液	30
试剂三	30
蒸馏水	60
样本	5

在EP管中按顺序加入上述试剂，立即混匀并计时，立即取200 μ L转移至微量玻璃比色皿或96孔板中，记录470nm下30s时的吸光值A1和1min30s后的吸光值A2。计算 $\Delta A = A2 - A1$ 。

三、POD 活性计算

a、用微量玻璃比色皿测定的计算公式如下

1. 按血清（浆）体积计算

单位定义：每mL血清（浆）在每mL反应体系中每分钟A470变化0.01定义为一个酶活力单位。

$$\text{POD活性 (U/mL)} = \Delta A \div 0.01 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 4900 \times \Delta A$$

2. 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0.01定义为一个酶活力单位。

$$\text{POD活性 (U/mg prot)} = \Delta A \div 0.01 \times V_{\text{反总}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T = 4900 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

3. 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0.01定义为一个酶活力单位。

$$\text{POD活性 (U/g质量)} = \Delta A \div 0.01 \times V_{\text{反总}} \div (W \div V_{\text{样总}} \times V_{\text{样}}) \div T = 4900 \times \Delta A \div W$$

4. 按细菌或细胞数量计算

单位定义：每1万个细菌或细胞在每mL反应体系中每分钟A470变化0.01定义为一个酶活力单位。

$$\text{POD活性 (U/10}^4 \text{ cell)} = \Delta A \div 0.01 \times V_{\text{反总}} \div (500 \div V_{\text{样总}} \times V_{\text{样}}) \div T = 9.8 \times \Delta A$$

b、用96孔板测定的计算公式如下

1. 按血清（浆）体积计算

单位定义：每mL血清（浆）在每mL反应体系中每分钟A470变化0.005定义为一个酶活力单位。

$$\text{POD活性 (U/mL)} = \Delta A \div 0.005 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 9800 \times \Delta A$$

2. 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定义为一个酶活力单位。

$$\text{POD活性 (U/mg prot)} = \Delta A \div 0.005 \times V_{\text{反总}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}}) \div T = 9800 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

3. 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定义为一个酶活力单位。

$$\text{POD活性 (U/g质量)} = \Delta A \div 0.005 \times V_{\text{反总}} \div (W \div V_{\text{样总}} \times V_{\text{样}}) \div T = 9800 \times \Delta A \div W$$

4. 按细菌或细胞数量计算

单位定义：每1万个细菌或细胞在每mL反应体系中每分钟A470变化0.005定义为一个酶活力单位。

$$\text{POD活性 (U/10}^4 \text{ cell)} = \Delta A \div 0.005 \times V_{\text{反总}} \div (500 \div V_{\text{样总}} \times V_{\text{样}}) \div T = 19.6 \times \Delta A$$

V反总：反应体系总体积，0.245mL；V样：加入样本体积，0.005mL；V样总：加入提取液体积，1mL；T：反应时间，1min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本鲜重，g；500：细菌或细胞总数，500万。

注意事项：

- 如一次测定的样本数量较多，试剂一、试剂二工作液、试剂三和蒸馏水按照比例混合，在37 $^{\circ}$ C（哺乳动物）或25 $^{\circ}$ C（其它物种）放置10min，测定时加入240 μ L即可。
- 样本测定值如果小于0.005，可将反应时间延长到3-5分钟，计算时除以反应时间即可；如果高于0.8或者反应液中有较多气泡产生，可将样本用提取液进行稀释。计算时乘以相应的稀释倍数即可。



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