

过氧化物酶 (POD) 活性检测试剂盒 (微量法)
(本试剂盒仅供科研使用)**产品包装**

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0080	过氧化物酶 (POD) 活性检测试剂盒 (微量法)	100 管/96 样

产品内容

名称	规格	储存条件
提取液	液体 100mL × 1 瓶	4℃
试剂一	液体 25mL × 1 瓶	4℃
试剂二	液体 100μL × 1 瓶: 开封后 1 个月内使用完。	4℃, 避光
试剂三	液体 100μL × 1 瓶: 开封后 1 个月内使用完。	4℃, 避光

一、产品说明

过氧化物酶(Peroxidase, POD) (EC 1.11.1.7) 广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中,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 催化 H₂O₂ 氧化特定底物,在 470nm 有特征光吸收。

二、自备材料

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、可调式移液器、微量石英比色皿/96 孔板、研钵、冰和蒸馏水。

三、样品准备

- 1、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℃ 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
- 2、细胞/细菌: 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 (10⁴ 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 20% 或 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 8000g 4℃ 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
- 3、血浆/血清: 直接检测。

四、操作步骤

正式测定前, 必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

- 1、酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 470nm, 蒸馏水调零。
- 2、工作液的配制: 临用前将试剂一、试剂二、试剂三按照 2.6 (mL): 1.5 (μL): 1 (μL) 的比例混匀; 在 37℃ (哺乳动物) 或 25℃ (其它物种) 预热 10min 以上; 现配现用。
- 3、在 96 孔板中加入 10μL 样本和 190μL 工作液, 混匀, 记录 470nm 下 1min 时吸光值 A₁ 和 2min 后的吸光值 A₂。计算 $\Delta A = A_2 - A_1$ 。

五、POD 活性的计算

1、按照样本蛋白浓度计算

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。

$$\text{POD (U/mg prot)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div 0.005 \div T = 4000 \times \Delta A \div \text{Cpr}。$$

2、按照样本鲜重计算

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。

$$\text{POD (U/g 鲜重)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 0.005 \div T = 4000 \times \Delta A \div W。$$

3、按照细菌/细胞密度计算

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 为一个酶活单位。

$$\text{POD (U/10}^4 \text{ ceLL)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 0.005 \div T = 8 \times \Delta A。$$

4、按照血清/血浆体积计算

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 为一个酶活单位。

$$\text{POD (U/mL)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div 0.005 \div T = 4000 \times \Delta A。$$

V 反总: 反应体系总体积, 0.2mL; V 样: 加入样本体积, 0.01mL; V 样总: 加入提取液体积, 1 mL; T: 反应时间, 1min; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量;
500: 细菌或细胞总数, 500 万。

六、注意事项

- 1、如果样本浓度过低 ΔA 小于 0.01, 可将反应时间延长或增加样本浓度, 最终的计算公式也要随之改变。
- 2、如果样本浓度过高 ΔA 大于 0.6, 可将样本用提取液稀释后测定, 计算公式中乘以相应稀释倍数。
- 3、工作液必需现用现配, 可根据样本量等比例配制。