

## 过氧化物酶（POD）活性检测试剂盒说明书

货号：RX862W96      规格：96 样      方法：酶标仪法

### 一、注意事项

- 1.使用前请通读一遍说明书再开始实验。
- 2.正式实验之前建议取 2-3 个样本提取液做预测定，样本和工作液混匀后很快由橘黄色变成红褐色，若 A1 值很大 ( $>1$ )，且  $\Delta A$  出现负值，说明酶活性比较高，可将样本的提取上清液用提取液或蒸馏水稀释 10-20 倍后重新检测，直到  $\Delta A$  不会出现负值（例如：10  $\mu\text{L}$  上清液+90  $\mu\text{L}$  提取液或蒸馏水为稀释 10 倍，以此类推）。计算结果乘以相应的稀释倍数。
- 3.如果 A1 值很小 ( $<0.1$ )，且  $\Delta A$  很小 ( $<0.005$ )，且样本和工作液混匀后一段时间没有显色，说明酶活性很低，可以延长反应时间到 10 min、20 min 或 30 min，直到  $\Delta A > 0.005$  即可。计算公式代入实际反应时间。
- 4.有些样本活性很高，加入工作液后很快变成了红褐色，为了减少误差，上机检测时建议分批测定。
- 5.本试剂盒仅用于科研。

### 二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
试剂一	130 mL×1	4°C	
试剂二	100 $\mu\text{L}$ ×1	4°C	棕色瓶保存
试剂三	100 $\mu\text{L}$ ×1	4°C	

### 三、仪器和用品

酶标仪、96 孔板、移液器、天平、可降温离心机、超纯水/蒸馏水、水浴锅/恒温培养箱。

### 四、粗酶液提取

#### 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（试剂一）体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液），超声波破碎细菌或细胞（冰浴，

功率 20%或 200W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次）；8000 g 4°C离心 10 min，取上清，置冰上待测。

组织：按照组织质量（g）：提取液（试剂一）体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1 mL 提取液，即 1：10），进行冰浴匀浆。8000 g，4°C离心 10 min，取上清，置冰上待测。

2、血清（浆）样品：取 100 μL 血清加入 1 ml 提取液检测。

### 五、测定步骤：

1. 酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 470 nm 处。
2. 工作液配制：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（约 13 个样，可根据样本数量按次比例配置）；在 37°C（哺乳动物）或 25°C（其它物种）预热 10 min 以上；现配现用。
- 3.在 96 孔板中依次加入（加入下列试剂时确保准确，降低误差）：

试剂名称	测定管
样本（μL）	10
工作液（μL）	190

混匀，测定 470 nm 下 1 min 时吸光值 A1 和 2 min 时的吸光值 A2（A2 和 A1 的时间间隔为 1 min）。计算 $\Delta A = A2 - A1$ 。

### 六、计算：

#### 1、血清（浆）POD 活性

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 为一个酶活力单位 U。

**过氧化物酶（POD）活性（U/mL）** =  $\Delta A \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div 0.01 \div T = 2000 \times \Delta A$

#### 2、组织、细菌或细胞 POD 活性

（1）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 为一个酶活力单位 U。

**过氧化物（POD）活性（U/mg prot）** =  $\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div 0.01 \div T = 2000 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$

(2) 按样本鲜重计算

单位定义：每 g 组织在每mL 反应体系中每分钟 A470 变化 0.01 为一个酶活力单位 U。

**过氧化物（POD）活性（U/g 鲜重）** =  $\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 0.01 \div T = 2000 \times \Delta A \div W$

(3) 按细菌或细胞密度计算

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 0.01 为一个酶活力单位 U。

**过氧化物（POD）活性（U/10<sup>4</sup> cell）** =  $\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 0.01 \div T = 4 \times \Delta A$

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：加入提取液体积，1 mL；T：反应时间，1 min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；500：细菌或细胞总数，500 万。

## 八、产品简介

过氧化物酶（POD）作为生物体内重要的保护酶之一，能帮助生物应对胁迫。它能够促进有毒物质的分解，从而增强生物对逆境的抵御能力。