过氧化物酶（POD）活性检测试剂盒说明书

规格：48 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ΔA 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ΔA 不会出现负值（例如：10 μL 上清液+90 μL 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ΔA 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ΔA＞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	70 mL×1	4℃	
试剂二	50 μL×1	4℃	棕色瓶保存
试剂三	50 μL×1	4℃	

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℃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℃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℃（哺乳动物）或 25℃（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ΔA＝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）=ΔA×V 反总÷V 样÷0.01÷T=2000×ΔA

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）＝ΔA×V 反总÷（V 样×Cpr）÷0.01÷T=2000×ΔA÷Cpr

（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）＝ΔA×V 反总÷(W×V 样÷V 样总)÷0.01÷T=2000×ΔA÷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/10^4 cell）＝ΔA×V 反总÷(500×V 样÷V 样总)÷0.01÷T=4×ΔA

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。