# 过氧化物酶酶（POD）活性检测试剂盒（分光光度计法）
# （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 |
|---|---|---|
| YFX0079 | 过氧化物酶（POD）活性检测试剂盒 | 50 管/48 样 |

## 产品内容

| 名称 | 规格 | 储存条件 |
|---|---|---|
| 提取液 | 液体 60mL ×1 瓶 | 4℃ |
| 试剂一 | 液体 60mL ×1 瓶 | 4℃ |
| 试剂二 | 液体 0.33mL ×2 瓶：临用前每瓶加入 5mL 试剂一；用不完的试剂 4℃保存一周。 | 4℃ |
| 试剂三 | 液体 10mL ×1 瓶 | 4℃ |

## 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、台式离心机、可调式移液器、1 mL 玻璃比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

## 三、样品制备

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（$10^4$ 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 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、可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 470nm，蒸馏水调零。

2、测定前将试剂一、二和三 37℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）放置 10min。

3、样本测定表：

| 试剂名称（μL） | 测定管 |
|---|---|
| 样本 | 15 |
| 蒸馏水 | 270 |
| 试剂一 | 520 |

| | |
|---|---|
| 试剂二 | 130 |
| 试剂三 | 135 |
| 在 1mL 玻璃比色皿中按顺序加入上述试剂，立即混匀并计时，记录 470nm 下 30s 时的吸光值 A1 和 1min 30s 后的吸光值 A2。计算ΔA = A2-A1。 | |

## 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 0.01 为一个酶活力单位。

POD（U/mg prot）= ΔA×V 反总÷（V 样×Cpr）÷0.01÷T = 7133×ΔA÷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 0.01 为一个酶活力单位。

POD（U/g 鲜重）= ΔA×V 反总÷(W× V 样÷V 样总)÷0.01÷T =7133×ΔA÷W。

3、按照细胞/细菌数量计算：

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 为一个酶活单位。

POD（U/$10^4$ ceLL）= ΔA×V 反总÷(500×V 样÷V 样总)÷0.01÷T =14.27×ΔA。

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 0.01 为一个酶活力单位。

POD（U/mL）= ΔA×V 反总÷V 样÷0.01÷T =7133×ΔA。

V 反总：反应体系总体积，1.07mL；V 样：加入样本体积，0.015mL；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。

## 六、注意事项

1、 若一次性测定样本较多，可将试剂一、二、三和蒸馏水按比例配成混合液，在 37℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）放置 10min 以上，测定时加入 15μL 样本和 1055μL 混合液测定。

2、 如果ΔA 小于 0.005，可将反应时间延长到 5min。如果ΔA 大于 0.5，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。