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 20mL ×1 瓶	4℃
试剂二	液体 0.2mL ×1 瓶：用时加入 3mL 试剂一，现配现用，可 4℃保存一周。	4℃
试剂三	液体 3mL ×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/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、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（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、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、二和三在 37℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）放置 10min 以上。

3、样本测定表：

试剂名称（μL）	测定管
试剂一	120
试剂二	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 200μL 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ΔA = A2-A1。	

五、POD 活性的计算

A. 使用 96 孔板测定的计算公式如下：

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。

POD（U/mg prot）＝ΔA÷0.005×V 反总÷（Cpr×V 样）÷T =9800×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 0.005 为一个酶活力单位。

POD（U/g 鲜重）＝ΔA÷0.005×V 反总÷（W÷V 样总×V 样）÷T =9800×ΔA÷W。

3、按照细菌/细胞密度计算

单位定义：每 1 万个细菌/细胞在每 mL 反应体系中每分钟 A470 变化 0.005 为 1 个酶活单位。

POD（U/10^4 ceLL）＝ΔA÷0.005×V 反总÷（500÷V 样总×V 样）÷T =19.6×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 0.005 为一个酶活单位。

POD（U/mL）=ΔA÷0.005×V 反总÷V 样÷T =9800×ΔA。

B. 使用微量玻璃比色皿测定的计算公式如下：

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÷0.01×V 反总÷（Cpr×V 样）÷T =4900×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÷0.01×V 反总÷（W÷V 样总×V 样）÷T =4900×ΔA÷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 0.01 为一个酶活单位。

POD（U/10^4 ceLL）＝ΔA÷0.01×V 反总÷（500÷V 样总×V 样）÷T =9.8×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 为一个酶活单位。

POD（U/mL）=ΔA÷0.01×V 反总÷V 样÷T =4900×ΔA。

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，1 min；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、 如一次测定的样本数量较多，可将试剂一、二、三和蒸馏水按照比例混合，在 37℃（哺乳动物） 或 25℃（其它物种）放置 10min，测定时加入 240μL 即可。

2、 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 0.5，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。