

过氧化物酶(POD)活性检测试剂盒

(货号: SH3016 酶标法 96T)

一、产品简介

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, 是植物体内重要的抗氧化酶之一。POD 催化 H_2O_2 氧化酚类或胺类化合物, 在活性氧清除和木质素合成等生理过程中起重要作用。

二、检测原理

过氧化物酶在 H_2O_2 存在下催化愈创木酚氧化生成红棕色产物, 在 470nm 有特征吸收峰, 可以通过测 470nm 下吸光值的变化来测定过氧化物酶活性。

三、试剂盒组分与规格

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃保存
试剂一	液体 1mL×1 瓶	4℃保存
试剂二	液体 20mL×1 瓶	4℃保存
试剂三	液体 1mL×1 瓶	4℃保存

四、所用到的仪器和用品

酶标仪、台式低温离心机、可调式移液器、96 孔板、匀浆器和蒸馏水。

五、过氧化物酶(POD)活性测定

正式实验前务必选取 2-3 个预期差异较大的样本做测定, 了解本批样本情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备:

①组织样本: 称取约 0.1g 组织 (水分充足样本可取 0.5g), 加入 1mL 提取液, 进行冰浴匀浆, 在 4℃ 12000g 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

【注】若增加样本量, 可按照组织质量(g): 提取液体积(mL)为 1: 5-10 的比例进行提取。



②细菌/细胞样本：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）；12000g 4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

③液体样本：直接检测。若浑浊，离心后取上清检测。

2、上机检测

①酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 470nm。

②所有试剂解冻至室温（25℃）或于水浴锅（25℃）中孵育 15-30min。

③试剂一、二、三可按照 10:170:10 比例配成混合液（一枪加 190μL 该混合液，该混合液用多少配多少，现配现用）。

④在 96 孔板中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管
样本	10
试剂一	10
试剂二	170
试剂三	10
混匀，立即于 470nm 处读取各管吸光值 A1，1 分钟后读取 A2， $\Delta A = A2 - A1$ 。	

六、结果计算

1、按样本鲜重计算：

酶活定义：每克组织每分钟在反应体系中使 470nm 处吸光值增加 1 为一个酶活单位 U。

$$\text{POD}(\Delta\text{OD}_{470}/\text{min/g 鲜重}) = \Delta A \div (W \times V1 \div V) \div T \times D$$

2、按照细菌或细胞数量计算：

酶活定义：每 10^4 个细菌/细胞每分钟在反应体系中使 470nm 处吸光值增加 1 为一个酶活单位 U。

$$\text{POD}(\Delta\text{OD}_{470}/\text{min}/10^4\text{cell}) = \Delta A \div (500 \times V1 \div V) \div T \times D$$

3、按样本蛋白浓度计算：

酶活定义：每毫克组织蛋白每分钟在反应体系中使 470nm 处吸光值增加 1 为一个酶活单位 U。



$$\text{POD}(\Delta\text{OD}_{470}/\text{min}/\text{mg prot}) = \Delta A \div (V1 \times \text{Cpr}) \div T \times D$$

4、按液体体积计算：

酶活定义：每毫升液体每分钟在反应体系中使 470nm 处吸光值增加 1 为一个酶活单位 U。

$$\text{POD}(\Delta\text{OD}_{470}/\text{min}/\text{mL}) = \Delta A \div V1 \div T \times D$$

V---加入提取液体积，1mL；

V1---加入样本体积，0.02mL；

D---稀释倍数，未稀释即为 1；

W---样本质量，g；

500---细胞数量，万；

T---反应时间，1min；

Cpr---样本蛋白质浓度，mg/mL，推荐使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒（货号：AR0146）。