

过氧化物酶(POD)活性检测试剂盒（微量法）

注意：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

产品货号：BA1106

产品规格：100管/96样

产品简介：

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 H_2O_2 氧化特定底物，在470nm有特征光吸收。

产品内容：

提取液：液体100mL×1瓶，4℃保存；

试剂一：液体20mL×1瓶，4℃保存；

试剂二：液体0.2mL×2瓶，4℃保存；用时每瓶加入3mL试剂一；用不完的试剂4℃保存一周；

试剂三：液体3mL×1瓶，4℃保存。

需自备的仪器和用品：

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。

操作步骤：

一、粗酶液提取：

1、细菌、细胞或组织样品的制备：

收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照每500万细菌或细胞加入1mL提取液，超声波破碎细菌或细胞（功率20%，超声3s，间隔10s，重复30次）；8000g 4℃离心10min，取上清，置冰上待测。

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、血清（浆）样品：直接检测。

二、测定步骤：

1、分光光度计或酶标仪预热30min以上，调节波长至470nm，蒸馏水调零。

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

3、样本测定表

试剂名称（ μ L）	测定管
样本	5
蒸馏水	60
试剂一	120
试剂二	30
试剂三	30

在EP管中按顺序加入上述试剂，立即混匀并计时，立即取200 μ L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 $\Delta A = A_2 - A_1$ 。

三：POD活性计算：

用微量玻璃比色皿测定的计算公式如下

1、按血清（浆）体积计算



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

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定义为一个酶活力单位。

$$\text{POD (U/mL)} = \Delta A \div 0.01 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 4900 \times \Delta A$$

2、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定义为一个酶活力单位。

$$\text{POD (U/mg prot)} = \Delta A \div 0.01 \times V_{\text{反总}} \div (Cpr \times V_{\text{样}}) \div T = 4900 \times \Delta A \div Cpr$$

3、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定义为一个酶活力单位。

$$\text{POD (U/g 鲜重)} = \Delta A \div 0.01 \times V_{\text{反总}} \div (W \div V_{\text{样总}} \times V_{\text{样}}) \div T = 4900 \times \Delta A \div W$$

4、按细菌或细胞数量计算

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定义为一个酶活力单位。

$$\text{POD (U/10}^4\text{cell)} = \Delta A \div 0.01 \times V_{\text{反总}} \div (500 \div V_{\text{样总}} \times V_{\text{样}}) \div T = 9.8 \times \Delta A$$

用96孔板测定的计算公式如下

1、按血清（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定义为一个酶活力单位。

$$\text{POD (U/mL)} = \Delta A \div 0.005 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 9800 \times \Delta A$$

2、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0.005定义为一个酶活力单位。

$$\text{POD (U/mg prot)} = \Delta A \div 0.005 \times V_{\text{反总}} \div (Cpr \times V_{\text{样}}) \div T = 9800 \times \Delta A \div Cpr$$

3、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0.005定义为一个酶活力单位。

$$\text{POD (U/g 鲜重)} = \Delta A \div 0.005 \times V_{\text{反总}} \div (W \div V_{\text{样总}} \times V_{\text{样}}) \div T = 9800 \times \Delta A \div W$$

4、按细菌或细胞数量计算

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0.005定义为一个酶活力单位。

$$\text{POD (U/10}^4\text{cell)} = \Delta A \div 0.005 \times V_{\text{反总}} \div (500 \div V_{\text{样总}} \times V_{\text{样}}) \div T = 19.6 \times \Delta A$$

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，1 mL；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。

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。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com