

# 过氧化物酶（POD）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1038

保存：4℃避光保存 12 个月

规格：48T/96T

适用样本：植物、细菌、细胞、血清

## 产品简介

过氧化物酶（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。本试剂盒提供了一种简单易用的比色法，用于分析生物样品中 POD 的活性。其原理是 POD 催化  $H_2O_2$  氧化特定底物生成有色物质，在 460nm 有特征光吸收。可以检测植物、细菌、细胞、血清等样本。

## 产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	60mL	120mL	4℃，保存
底物	2.5mL	5mL	4℃，避光保存
$H_2O_2$	0.1mL	0.2mL	4℃，避光保存

## 自备耗材

酶标仪或可见分光光度计（能测 460nm 处的吸光度）及恒温培养箱  
96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头  
去离子水  
匀浆器（组织样本）

## 试剂准备

**注意：各组分（小管试剂）开盖前，请先低速离心。**

提取液：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

底物：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

$H_2O_2$ ：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

工作液的配制：临用前将提取液、底物、 $H_2O_2$  按照每孔 139  $\mu$ L：50  $\mu$ L：1  $\mu$ L 的比例混匀（按需要检测的样本数量进行计算，可多配一些以防不够）；现配现用。

## 样本制备

植物样本：用冷的 PBS 清洗植物组织，吸干组织上的水分，尽可能剪碎，称取 0.1g 组织加入 1 mL 预冷的提取液。对于植物纤维不多的植物组织快速冰上匀浆，匀浆后的样本，8,000g 4℃离心 10min，取上清待测。对于植物纤维较多的植物组织冰浴超声波破碎 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），然后 4℃ 8,000g 离心 10min，取上清待测。

细菌或细胞样本：收集  $5 \times 10^6$  个细菌或细胞，用冷 PBS 清洗细菌或细胞后弃上清，加入 1mL 预冷的提取液冰浴超声波破碎 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），然后 4℃ 8,000 g 离心 10min，取上清待测。

血清或其他液体样本：直接检测。

## 产品说明书

**注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存1个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用BCA法蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。**

### 实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热30min以上，调节波长到460nm，可见分光光度计去离子水调零。
2. 工作液在37℃（哺乳动物）或25℃（其它物种）预热10min以上。
3. 在96孔板或微量玻璃比色皿中加入10μL样本和190μL工作液，混匀，记录460nm下0min时吸光值 $A_1$ 和1min后的吸光值 $A_2$ 。计算 $\Delta A=A_2-A_1$ 。

**注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果加入工作液以后颜色立刻变得较深，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，植物样本通常稀释5倍比较适宜。**

### 结果计算

#### A. 使用96孔板测定的计算公式

##### 1. 按样本鲜重计算

单位的定义：每g组织在反应体系中每分钟A460变化0.005为一个酶活力单位。

$$\text{POD(U/g 鲜重)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 0.005 \div T = 4,000 \times \Delta A \div W$$

##### 2. 按样本蛋白浓度计算：

单位的定义：每mg组织蛋白在反应体系中每分钟A460变化0.005为一个酶活力单位。

$$\text{POD(U/mg prot)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div 0.005 \div T = 4,000 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

##### 3. 按细菌或细胞样本密度计算

单位的定义：每1万个细菌或细胞在反应体系中每分钟A460变化0.005为一个酶活力单位。

$$\text{POD(U}/10^4 \text{ cells)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 0.005 \div T = 8 \times \Delta A$$

##### 4. 按液体样本体积计算

单位的定义：每1mL液体样本在反应体系中每分钟A460变化0.005为一个酶活力单位。

$$\text{POD(U/mL)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div V_{\text{样}} \div 0.005 \div T = 4,000 \times \Delta A$$

#### B. 使用微量玻璃比色皿测定的计算公式

##### 1. 按样本鲜重计算

单位的定义：每g组织在反应体系中每分钟A460变化0.01为一个酶活力单位。

$$\text{POD(U/g 鲜重)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 0.01 \div T = 2,000 \times \Delta A \div W$$

##### 2. 按样本蛋白浓度计算：

单位的定义：每mg组织蛋白在反应体系中每分钟A460变化0.01为一个酶活力单位。

$$\text{POD(U/mg prot)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div 0.01 \div T = 2,000 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

##### 3. 按细菌或细胞样本密度计算

单位的定义：每1万个细菌或细胞在反应体系中每分钟A460变化0.01为一个酶活力单位。

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

##### 4. 按液体样本体积计算

单位的定义：每1mL液体样本在反应体系中每分钟A460变化0.01为一个酶活力单位。

$$\text{POD(U/mL)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div V_{\text{样}} \div 0.01 \div T = 2,000 \times \Delta A$$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积，0.2mL； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.01mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1mL； $W$ ：样品质量，0.1g； $T$ ：反应时间，1min； $\text{Cpr}$ ：样本蛋白质浓度，mg/mL；500：细菌或细胞总数，500万。

### 注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

### 相关产品：

PMK1036 超氧化物歧化酶（SOD）检测试剂盒（微量法）

## 产品说明书

PMK1041 黄嘌呤氧化酶 (XO) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1048 二胺氧化酶 (DAO) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1039 过氧化氢 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1037 过氧化氢酶 (CAT) 检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解，请关注公众号：

