

# 过氧化物酶（POD）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1038BKM

保存：4℃避光保存 12 个月

规格：48T/48S 96T/96S

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 650nm 有特征光吸收，通过吸光值变化即可反映过氧化物酶的活性。

## 产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
提取液	50mL	100mL	4℃，保存
底物	5mL	10mL	4℃，避光保存

## 自备耗材

酶标仪或可见分光光度计（能测 650nm 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。

## 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。

**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 650nm，可见分光光度计去离子水调零。
2. 底物在 37℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）预热 10min 以上。

## 产品说明书

3. 在 96 孔板或微量玻璃比色皿中加入 10  $\mu$ L 样本和 90  $\mu$ L 底物，混匀，记录 650nm 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。如果加入底物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催化产生 1nmol 氧化型 TMB 定义为一个酶活力单位 U。

$$\text{POD(U/g 鲜重)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 512.82 \times \Delta A \div W$$

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催化产生 1nmol 氧化型 TMB 定义为一个酶活力单位 U。

$$\text{POD(U/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 512.82 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

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催化产生 1nmol 氧化型 TMB 定义为一个酶活力单位 U。

$$\text{POD(U}/10^4 \text{ cells)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 1.026 \times \Delta A$$

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催化产生 1nmol 氧化型 TMB 定义为一个酶活力单位 U。

$$\text{POD(U/mL)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 512.82 \times \Delta A$$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积， $1 \times 10^{-4}$  L； $\epsilon$ ：氧化态 TMB 在 650nm 处的摩尔吸光系数， $3.9 \times 10^4$  L/mol/cm； $d$ ：96 孔板光径，0.5cm； $10^9$ ： $1\text{mol}=1 \times 10^9\text{nmol}$ ； $V_{\text{样}}$ ：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。

B. 使用微量玻璃比色皿测定的计算公式

将上述计算公式中的光径  $d$ ：0.5cm 调整为  $d$ ：1cm 进行计算即可。

### 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：

PMK1036BKM 超氧化物歧化酶 (SOD) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1039BKM 过氧化氢 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1037BKM 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：

