

Peroxidase (POD) Activity Assay Kit

过氧化物酶(Peroxidase, POD)活性检测试剂盒 分光法

产品编号	产品名称	规格
BL1064A	过氧化物酶(Peroxidase, POD)活性检测试剂盒 分光法	48T

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,是普遍存在的一种重要的氧化还原酶,其活性高低与抗性密切相关。在过氧化物酶催化下, H₂O₂ 氧化愈创木酚生成红棕色产物,该产物在 470nm 处有最大光吸收,故可通过测 470nm 下吸光值变化测定过氧化物酶活性。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求
提取液	液体 60mL×1 瓶	4°C保存
试剂一	液体 10mL×1 瓶	4°C保存
试剂二	液体 50mL×1 瓶	4°C保存
试剂三	液体 2mL×1 瓶	4°C保存

使用方法:

建议正式实验前,选取 2 个样本做预测定,了解实验样品情况,熟悉流程,避免样本和试剂浪费!

一、样本准备:

1. 组织样本:

- 称取约 0.1g 组织(水分充足的样本可取 0.25g),加入 1mL 提取液,进行冰浴匀浆;
- 10000-12000g, 4°C离心 10min,取上清,置冰上测定。

【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;
- 取 5×10⁶ 个细菌或细胞加入 1mL 提取液,超声波破碎细菌或细胞(冰浴,200W,超声 3s,间隔 10s,重复 30 次);
- 10000-12000 g, 4°C离心 10min,取上清,置冰上待测。

【注】:若增加样本量,按照每 0.5~1×10⁷ 个细菌/细胞加入 1mL 提取液进行提取。

3. 液体样本:

澄清液体直接检测;若浑浊,离心后取上清检测。

二、样品测定:

- 可见分光光度计预热 30min,设定波长到 470nm,蒸馏水调零。
- 测定前将试剂一、二和三解冻至室温(25°C)。
- 在 1ml 玻璃比色皿(光径 1cm)中依次加入:

试剂名称(μL)	测定管
样本	40

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意:在体外研究使用,不用于诊断或治疗用途,本产品不是医疗装置。



试剂一	160
试剂二	560
试剂三	40
混匀后，立即在 470nm 处读取吸光值 A1，1min 后读取 A2， $\Delta A=A2-A1$ 。	

- 【注】**：1. 该反应很迅速，加完试剂三即启动反应，所以试剂三加完需立即检测，若 A1 值大于 1 或 ΔA 大于 1，可降低样本量 V1（如减至 20 μ L，则试剂二相应增加），改变后的 V1 需代入公式重新计算。
 2. 若 ΔA 小于 0.005，可增加样本量 V1（如增至 80 μ L，则试剂二相应减少），或可延长反应时间 T（如延长到 5min 后读取 A2），则改变后的 V1 和 T 需代入公式重新计算。
 3. 若上升趋势不稳定，可全部加完稳定几分钟后再次读取 A1，选取一段线性增长范围读取 A2。
 4. 若检测体系不变，可按照样本检测数量，预先把试剂一和二和三按照 160:560:40 比例配成所需体积的混合液，在加样表中直接加一枪 760 μ L 混合液即可。

三、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 0.5 为一个酶活力单位 U。

$$\text{POD} (\Delta\text{OD}_{470} / \text{min/g 鲜重}) = \Delta A \div (W \times V1 \div V) \div 0.5 \div T = 50 \times \Delta A \div W$$

2. 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 0.5 为一个酶活力单位 U。

$$\text{POD} (\Delta\text{OD}_{470} / \text{min/mg prot}) = \Delta A \div (V1 \times \text{Cpr}) \div 0.5 \div T = 50 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

3. 按细胞数量计算：

酶活定义：每 10⁴ 个细胞每分钟在反应体系中使 470nm 处吸光值 0.5 为一个酶活力单位 U。

$$\text{POD} (\Delta\text{OD}_{470} / \text{min}/10^4\text{cell}) = \Delta A \div (500 \times V1 \div V) \div 0.5 \div T = 0.1 \times \Delta A$$

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 0.5 为一个酶活力单位 U。

$$\text{POD} (\Delta\text{OD}_{470} / \text{min/mL}) = \Delta A \div V1 \div 0.5 \div T = 50 \times \Delta A$$

V---加入提取液体积，1 mL

V1---加入样本体积，0.04mL

T---反应时间，1min

W---样本质量，g

Cpr---样本蛋白质浓度，mg/mL

500---细胞数量

注意事项：

- 1、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
- 2、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：

4°C保存六个月。

