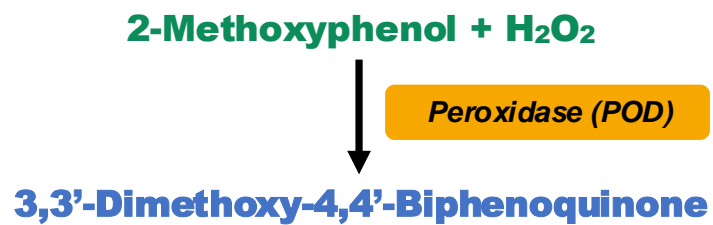




过氧化物酶 (POD) 活性检测试剂盒  
Peroxidase (POD) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司  
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



## 过氧化物酶 (POD) 活性检测试剂盒

### Peroxidase (POD) Activity Assay Kit

#### 一、产品描述

过氧化物酶 (POD) 是生物体内一类含血红素的氧化酶, 广泛存在于各种动物、植物和微生物体内, 能够催化由过氧化氢参与的多种氧化反应, 并且与呼吸作用、光合作用及生长素的氧化等多种生理生化过程密切相关, 在细胞代谢的氧化还原过程中起重要作用。

过氧化物酶可催化  $H_2O_2$  氧化愈创木酚生成茶褐色 4-邻甲氧基苯酚, 产物在 470 nm 处具有特征吸收峰, 通过吸光值变化即可表征过氧化物酶的活性。

#### 二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 120 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 25 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	液体 0.2 mL×2 瓶	4°C 避光保存	使用前每瓶加入 2.5 mL 试剂一充分混匀 (现用现配, 配制后 4°C 可保存一周)
试剂三	液体 3 mL×1 瓶	4°C 避光保存	-

#### 三、产品使用说明

**测定过程中所需要的仪器和试剂:** 可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿 (光径 10 mm) /96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

##### 1. 粗酶液的制备 (可根据预实验结果适当调整样本量及比例)

①组织: 按照组织质量 (g): 提取液体积 (mL) 为 1: (5-10) 的比例 (建议称取 0.1 g 组织, 加入 1 mL 提取液) 处理样品, 冰浴匀浆, 4°C 8000 g 离心 10 min, 取上清置于冰上待测。

注: 若质地坚硬植物样本, 可液氮研磨后再加入提取液, 冰浴匀浆后离心取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞: 离心收集细菌或细胞至离心管内, 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 1 mL 提取液) 处理样品, 冰浴超声破碎 (功率 20% 或 200 W, 超声 3 s, 间隔 10 s, 重复 30 次), 4°C 8000 g 离心 10 min, 取上清置于冰上待测。

③血清 (浆)、培养液等液体样本: 直接检测或使用提取液适当稀释后再进行检测。

## 2.测定步骤

- ①分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 470 nm，蒸馏水调零。
- ②试验前将**试剂一**、**试剂二**和**试剂三** 37°C（哺乳动物）或 25°C（其它物种）预热 10 min 以上。
- ③在 96 孔板或微量玻璃比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 ( $\mu\text{L}$ )
试剂一	150
试剂二	20
试剂三	20
粗酶液	10

**吸光值测定：**立即充分混匀并开始计时，测定 30 s 时 470 nm 处吸光值 A1 和 90 s 时 470 nm 处吸光值 A2，计算  $\Delta A = A2 - A1$ 。

## 3.过氧化物酶（POD）活性计算

### 3.1 使用 96 孔板测定的计算公式

- ①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白在每 mL 体系中每分钟 A470 变化 0.005 为一个酶活力单位。

$$\text{POD (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}}}{0.005 \times C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{4000 \times \Delta A}{C_{\text{pr}}}$$

- ②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织在每 mL 体系中每分钟 A470 变化 0.005 为一个酶活力单位。

$$\text{POD (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{0.005 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{4000 \times \Delta A}{W}$$

- ③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每  $10^4$  个细菌或细胞在每 mL 体系中每分钟 A470 变化 0.005 为一个酶活力单位。

$$\text{POD (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{0.005 \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{4000 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

- ④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本在每 mL 体系中每分钟 A470 变化 0.005 为一个酶活力单位。

$$\text{POD (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}}}{0.005 \times V_{\text{样}} \times T} = 4000 \times \Delta A$$

### 3.2 使用微量玻璃比色皿测定的计算公式

#### ①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白在每 mL 体系中每分钟 A470 变化 0.01 为一个酶活力单位。

$$\text{POD (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}}}{0.01 \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{2000 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

#### ②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织在每 mL 体系中每分钟 A470 变化 0.01 为一个酶活力单位。

$$\text{POD (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{0.01 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{2000 \times \Delta A}{W}$$

#### ③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每  $10^4$  个细菌或细胞在每 mL 体系中每分钟 A470 变化 0.01 为一个酶活力单位。

$$\text{POD (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{0.01 \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{2000 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

#### ④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本在每 mL 体系中每分钟 A470 变化 0.01 为一个酶活力单位。

$$\text{POD (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}}}{0.01 \times V_{\text{样}} \times T} = 2000 \times \Delta A$$

**注释：** V 反总：反应体系总体积，0.2 mL；V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，10  $\mu\text{L}$ =0.01 mL；

V 样总：粗酶液总体积，1 mL；T：反应时间，60 s=1 min；Cpr：粗酶液蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计。

### 四、注意事项

①若测定样本较多，可将试剂一、试剂二和试剂三按比例配成检测工作液（现用现配），37°C（哺乳动物）或 25°C（其它物种）预热 10 min 以上，测定时加入 10  $\mu\text{L}$  粗酶液和 190  $\mu\text{L}$  检测工作液；

②若使用 96 孔板进行检测，应使用多道移液器且分批进行检测，以确保组间反应时间一致；

③若  $\Delta A$  小于 0.005，可适当延长反应时间（3-5 min）后再进行测定；若  $\Delta A$  大于 0.5，建议将粗酶液使用提取液稀释后再进行测定，计算时相应修改；

④为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

**For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.**

