

过氧化物酶(POD)活性检测试剂盒

(货号: SH3016 酶标法 96T)

一、产品简介

过氧化物酶(Peroxidase, POD, EC 1.11.1.7)广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中,是植物体内重要的抗氧化酶之一。POD催化 H_2O_2 氧化酚类或胺类化合物,在活性氧清除和木质素合成等生理过程中起重要作用。

二、检测原理

过氧化物酶在 H_2O_2 存在下催化愈创木酚氧化生成红棕色产物,在470nm有特征吸收峰,可以通过测470nm下吸光值的变化来测定过氧化物酶活性。

三、试剂盒组分与规格

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体 100mL×1 瓶	4℃保存
试剂一	液体 1mL×1 瓶	4℃保存
试剂二	液体 20mL×1 瓶	4℃保存
试剂三	液体 1mL×1 瓶	4℃保存

四、保存条件: 4℃保存, 6个月有效。

五、所用到的仪器和用品

酶标仪、台式低温离心机、可调式移液器、96孔板、匀浆器和蒸馏水。

六、过氧化物酶(POD)活性测定

正式实验前务必选取2-3个预期差异较大的样本做测定,了解本批样本情况,熟悉实验流程,避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备:

①组织样本:称取约0.1g组织(水分充足样本可取0.5g),加入1mL提取液,进行冰浴匀浆,在4℃12000g离心10min,取上清,置冰上待测。

【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;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1mL提取液),超声波破碎细菌或细胞(冰浴,功率20%或200W,超声3s,间隔10s,重复30次);12000g 4℃离心10min,取上清,置冰上待测。

③液体样本:直接检测。若浑浊,离心后取上清检测。

2、上机检测

①酶标仪预热30min以上,调节波长至470nm。

②所有试剂解冻至室温(25℃)或于水浴锅(25℃)中孵育15-30min。

③试剂一、二、三可按照10:170:10比例配成混合液(一枪加190μL该混合液,该混合液用多少配多少,现配现用)。

④在96孔板中依次加入:



试剂名称 (μL)	测定管
样本	10
试剂一	10
试剂二	170
试剂三	10
混匀, 立即于 470nm 处读取各管吸光值 A1, 1 分钟后读取 A2, ΔA=A2-A1。	

七、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 1 为一个酶活单位 U。

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

2、按照细菌或细胞数量计算:

酶活定义: 每 10⁴ 个细菌/细胞每分钟在反应体系中使 470nm 处吸光值增加 1 为一个酶活单位 U。

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

3、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 处吸光值增加 1 为一个酶活单位 U。

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

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 1 为一个酶活单位 U。

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

V---加入提取液体积, 1mL;

V1---加入样本体积, 0.02mL;

D---稀释倍数, 未稀释即为 1;

W---样本质量, g;

500---细胞数量, 万;

T---反应时间, 1min;

Cpr---样本蛋白质浓度, mg/mL, 推荐使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒 (货号: AR0146)。