

M5 HiPer 过氧化物酶（POD）测试盒使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 HiPer 过氧化物酶（POD）测试盒	48T	MF494-01

【储存条件】

4°C保存

【产品简介】

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。POD 催化 H₂O₂ 氧化特定底物，在 470nm 有特征光吸收。

【产品组份】

提取液：液体 60mL×1 瓶，4°C保存；

试剂一：液体 60mL×1 瓶，4°C保存；

试剂二：液体×2 瓶，4°C保存；用时每瓶加入 5mL 试剂一；用不完的试剂 4°C保存一周；

试剂三：液体 10 mL×1 瓶，4°C保存。

【实验前准备】

可见分光光度计、台式离心机、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、研钵、冰和蒸馏水

【操作步骤】

一、粗酶液提取：

1、细菌、细胞或组织样品的制备：

细菌或培养细胞：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（10⁴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）；8000g 4°C离心 10min，取上清，置冰上待测。

组织：按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液），进行冰浴匀浆。8000g 4°C离心 10min，取上清，置冰上待测。

2、血清（浆）样品：直接检测。

二、测定步骤和加样表：

试剂名称（μL）	测定孔
样本	15
蒸馏水	270
试剂一	520
试剂二	130
试剂三	135

测定前将试剂一、二和三 37°C（哺乳动物）或 25°C（其它物种）放置 10min。在 1mL 玻璃比色皿中按顺序加入上述试剂，立即混匀并计时，记录 470nm 下 30s 时的吸光值 A1 和 1min30s 后的吸光值 A2。计算 $\Delta A = A2 - A1$ 。

注意：

1. 若一次性测定样本较多，可将试剂一、二、三和蒸馏水按比例配成混合液，在 37°C（哺乳动物）或 25°C（其它物种）放置 10min 以上，测定时加入 15 μ L 样本和 1055 μ L 混合液测定。
2. 如果 ΔA 小于 0.005，可将反应时间延长到 5min。如果 ΔA 大于 0.5，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。

三、POD 活性计算：

1、血清（浆）POD 活性

单位定义：每 mL 血清（浆）在每 mL 反应体系中每分钟 A470 变化 0.01 为一个酶活力单位。

计算公式：POD (U/mL) = $\Delta A \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div 0.01 \div T = 7133 \times \Delta A$

2、组织、细菌或细胞 POD 活性

(1) 按样本蛋白浓度计算

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

POD (U/mg prot) = $\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div 0.01 \div T = 7133 \times \Delta A \div \text{Cpr}$

(2) 按样本鲜重计算

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

POD (U/g 鲜重) = $\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 0.01 \div T = 7133 \times \Delta A \div W$

(3) 按细菌或细胞密度计算

单位定义：每 1 万个细菌或细胞在每 mL 反应体系中每分钟 A470 变化 0.01 为一个酶活力单位。

POD (U/10⁴ cell) = $\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 0.01 \div T = 14.27 \times \Delta A$

V 反总：反应体系总体积，1.07mL；V 样：加入样本体积，0.015mL；V 样总：加入提取液体积，1 mL；T：反应时间，1 min；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量；500：细菌或细胞总数，500 万。

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。