

# 过氧化物酶（POD） 检测试剂盒微板法

## 使用说明书

产品货号：BP10025W

注意：请在试剂盒保质期内使用，具体保质期见外包装标签。

本产品仅供科学研究使用，不能用于临床诊断。

有效期：6个月

保存温度：2-8℃

## 检测原理：

过氧化氢酶（POD）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 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 氧化特定底物，在 470nm 有特征光吸收。本试剂盒检测植物样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用本公司 BCA 法蛋白定量试剂盒。

## 注意事项：

1. 不能使用过期产品，不同货号 and 批号组分不得混用。
2. 本试剂开封后请尽快使用，以免空气、采样污染引起试剂变质。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 如果可能传播疾病，所有的样品都应管理好，按照规定的程序处理样品和检测装置。
5. 试剂严格按保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。试剂盒中如有提供粉剂，使用前请甩几下，使粉剂落入底部。

## 试剂盒组分：

试剂名称	规格(48T/48S)	规格(96T/96T)	保存条件
提取液	50mL×1 瓶	100mL×1 瓶	2-8℃
试剂一	12.5mL×1 瓶	25mL×1 瓶	2-8℃
试剂二	100 μ L×1 瓶	200 μ L×1 瓶	2-8℃
试剂三	100 μ L×1 瓶	200 μ L×1 瓶	2-8℃

## 所需仪器耗材及试剂：

离心机、酶标仪、可调式移液器、蒸馏水、恒温箱。

## 样本处理及要求:

1. **试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围**, 建议实验前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定, 根据预实验的结果, 如果样品中待测物浓度过高或过低, 请对样本做适当的稀释或浓缩, 样本稀释液为蒸馏水。
2. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中, 建议做预实验验证其检测有效性。
3. **血清(浆)等液体样本**: 直接测定。若浑浊, 可离心后取上清测定。
4. **组织样本**: 按照组织质量 (g) : 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, 10000 g, 4℃ 离心 10 min, 取上清液待测。
5. **细菌或培养细胞样本**: 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); 10000g 4℃ 离心 10min, 取上清, 置冰上待测。

## 检测前准备工作:

1. 请提前取出试剂盒，平衡至室温。
2. **工作液配制**：临用前将试剂一、试剂二、试剂三按照 2.6mL：1.5  $\mu$ L：1  $\mu$ L 的比例混匀；在 37°C（哺乳动物）或 25°C（其它物种）预热 10min 以上，现配现用。

**操作步骤:**

1. 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 470nm。
2. 样本测定 (在 96 孔板中依次加入):

试剂名称( $\mu$ L)	测定孔
样本	10
工作液	190

混匀, 记录在 470nm 处 1min 时 OD 值记为  $A_1$ ; 2min 时的 OD 值记为  $A_2$ ,  $\Delta A = A_2 - A_1$ 。

**注:**

1. 样本测定值如果小于 0.005, 可将反应时间延长到 3-5 分钟, 计算时除以反应时间;
2. 如果高于 0.8 或者反应液中有较多气泡产生, 可将样本用提取液进行稀释, 计算时乘以相应的稀释倍数。

实验结果结算：

## 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  $\Delta A$  变化 0.01 为一个酶活力单位。

$$\text{POD (U/mL)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div 0.01 \div T \times N = 4000 \times \Delta A \times N$$

## 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  $\Delta A$  变化 0.01 为一个酶活力单位。

$$\text{POD (U/mg prot)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div 0.01 \div T \times N = 4000 \times \Delta A \div \text{Cpr} \times N$$

### (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  $\Delta A$  变化 0.01 为一个酶活力单位。

$$\text{POD (U/g 鲜重)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提取}}) \div 0.01 \div T \times N = 4000 \times \Delta A \div W \times N$$

### (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  $\Delta A$  变化 0.01 为一个酶活力单位。

$$\text{POD (U/10}^4\text{cell)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提取}}) \div 0.01 \div T \times N = 8 \times \Delta A \times N$$

## 注:

$V_{\text{反总}}$ : 反应体系总体积, 1mL       $\Delta A$ : 样本测定孔变化 OD 值,  $A_2 - A_1$

$V_{\text{样}}$ : 加入样本体积, 0.01mL      N: 样本稀释倍数

$V_{\text{提取}}$ : 加入提取液体积, 1mL      W: 组织质量, g

T: 反应时间, 1min      Cpr: 待测样本的蛋白浓度, mg/mL

V: 提取液体积, mL      500: 细菌或细胞总数, 500 万