过氧化物酶（POD）活性检测试剂盒

Peroxidase (POD) Activity Assay Kit

2-Methoxyphenol + H_2O_2

↓ *Peroxidase (POD)*

3,3'-Dimethoxy-4,4'-Biphenoquinone

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 60 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂一	液体 60 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂二	液体 0.4 mL×2 瓶	4°C避光保存	**使用前每瓶加入 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 6 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、1 mL 玻璃比色皿（光径 10 mm）、研钵/匀浆器、可调式移液器、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。

Not for further distribution without written consent.　Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

2.测定步骤

①分光光度计预热 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℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）预热 10 min 以上。

③在 1 mL 玻璃比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组（μL）
试剂一	750
试剂二	100
试剂三	100
粗酶液	50

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 ΔA=A2-A1。

3.过氧化物酶（POD）活性计算

①按组织蛋白浓度计算

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。

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

②按组织样本质量计算

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。

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

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 反应体系中每分钟 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 反应体系中每分钟 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，1 mL；V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，50 μL=0.05 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。

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

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℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）预热 10 min 以上，测定时加入 50 μL 粗酶液和 950 μL 检测工作液；

②准确在相应时间点完成吸光值测定，以确保实验结果的准确性和重复性；

③若 ΔA 小于 0.005，可适当延长反应时间（3-5 min）后再进行测定；若 ΔA 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.

Manufactured and Distributed by
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China
TEL: 400-805-8228
E-MAIL: techsupport@boxbio.cn
Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.