

过氧化物酶（POD）活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AMHA1-M48	过氧化物酶(POD)活性检测试剂盒	48T	微量法
AMHA1-M96		96T	

一、测定意义：

POD广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中，是过氧化物酶体的标志酶，是其一类氧化还原酶，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。

二、测定原理：

在过氧化物酶（POD）的催化下，过氧化氢将愈创木酚氧化成茶褐色物质，该物质在470nm有最大光吸收，故可通过470nm下吸光度的变化测定过氧化物酶的活性。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量（48T）	试剂装量（96T）	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 110mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 6mL×1 瓶	液体 12mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 2.5mL×1 瓶	液体 5mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 2.5mL×1 瓶	液体 5mL×1 瓶	2-8℃保存

四、操作步骤：

样本前处理

1、组织：按照组织质量（g）:提取液(mL)为 1:10 的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆。5000 rpm，4℃离心 10 min，取上清置冰上待测。

2、细菌/细胞：按照细胞数量(10⁴ 个):试剂一体积(mL)为 500~1000:1 的比例（建议 500 万细胞加入 1mL提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率 200W，超声 3 秒，间隔 7 秒，总时间 5min）；然后 10000g，4℃离心10min，取上清置于冰上待测。

3、血清（浆）等液体样本：直接测定。若有浑浊请离心后取上清待测。

测定步骤

- 1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至470nm，蒸馏水调零；
- 2、测定前将试剂恢复至常温；
- 3、工作液的配制：临用前将试剂一、试剂二、试剂三按照 11（μL）：4（μL）：4（μL）的比例混匀，现配现用；
- 4、在96孔板中依次加入10 μL样本和190μL工作液，轻轻振荡或敲打混匀，记录470nm下30s 时吸光值A1和1min30s 后的吸光值A2。
计算 $\Delta A = A2 - A1$ 。

五、过氧化物酶(POD)活性计算：

1、血清样本POD计算

单位定义：每毫升样本在每毫升反应体系中每分钟A470变化0.005为一个酶活力单位。

计算公式： $POD(U/mL) = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div V_{\text{样}} \div 0.01 \div T = 4000 \times \Delta A$

2、组织、细胞样本POD计算

(1)按样本蛋白浓度计算

单位定义：每毫克组织蛋白在每毫升反应体系中每分钟A470变化0.005为一个酶活力单位。

计算公式： $POD(U/mg \text{ prot}) = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div (V_{\text{样}} \times Cpr) \div 0.01 \div T = 4000 \times \Delta A \div Cpr$

(2)按样本鲜重计算

单位定义：每克组织在每毫升反应体系中每分钟A470变化0.005为一个酶活力单位。

计算公式： $POD(U/g) = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 0.01 \div T = 4000 \times \Delta A \div W$

(3)按照细菌或细胞数量计算

单位定义：每10⁴细胞在每毫升反应体系中每分钟A470变化0.005为一个酶活力单位。

计算公式：
$$\text{POD (U/10}^4 \text{ cell)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 0.01 \div T$$
$$= 8 \times \Delta A \div W$$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积，0.2mL； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.01mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提取液体积，1 mL； T ：反应时间，1min； C_{pr} ：样本蛋白质浓度，mg/mL； S ：细胞/细菌数，500万； W ：样本重量，g。

六、注意事项：

- 1、样本测试前请选取2个预期差异最大的样本，稀释成不同浓度进行预试，以选取最佳取样浓度；
- 2、样本测定 ΔA 值如果小于0.005，可将反应时间延长到3-5分钟，计算时除以相应的反应时间即可；如果高于0.3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即可。

【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期：2025 年 4 月 7 日

修改日期：2025 年 4 月 7 日