

过氧化物酶(POD)活性检测试剂盒

货号: BQSH-052

规格: 100T/96S

产品简介

POD(过氧化物酶)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_2O_2 氧化特定底物,在 470nm 有特征光吸收。

试剂盒组成

提取液	液体 110ml×1 瓶, 2-8℃ 保存
试剂一	液体 20ml×1 瓶, 2-8℃ 保存
试剂二	液体 0.04ml×1 瓶, 2-8℃ 保存
试剂三	液体 3ml×1 瓶, 2-8℃ 保存

操作步骤:

一、样本处理

1. 收集细菌或细胞到离心管内,离心后弃上清;按照每 500 万细菌或细胞加入 1mL, 提取液, 超声波破碎细菌或细胞, 离心, 取上清, 置冰上待测。
2. 称取组织, 加入提取液进行冰浴匀浆。离心, 取上清, 置冰上待测。
3. 血清(浆): 直接检测。若有浑浊请离心后去上清使用。

二、测定步骤

1.分光光度计预热，调节波长至 470nm，蒸馏水调零。

2.样本测定，依次加入样本、蒸馏水、试剂一、试剂二、试剂三。37℃(哺乳动物)或 25℃(其它物种)中准确水浴 10min 后，迅速放入沸水中加热 10min。冷却后，离心，收集上清，410nm 处检测 30s 时吸光值 A1，和 1min30s 吸光值 A2， $\Delta A=A2-A1$ 。

注意：每个测定管需要设置一个对照管，可以在不同对照管中加入不同样本的粗酶液，然后集中进行沸水浴处理。

三、PPO 活性计算

A.用微量玻璃比色皿测定的计算公式如下：

1.按血清（浆）POD 体积计算：

单位定义：每 mL 血清（浆）在每 mL 反应体系中每分钟 A470nm 变化 0.01 为一个酶活力单位。

$$\text{POD(U/mL)} = \Delta A \div 0.01 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 4900 \times \Delta A$$

2.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 A470nm 变化 0.01 为一个酶活力单位。

$$\text{POD(U/mg prot)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 4900 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

3.按样本质量计算：

单位定义：每 g 组织在每 mL 反应体系中每分钟 A470nm 变化 0.01 为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{POD(U/g 质量)} &= \Delta A \div 0.01 \times V_{\text{反总}} \div (W \div V_{\text{样总}} \times V_{\text{样}}) \div T \\ &= 74900 \times \Delta A \div W \end{aligned}$$

4.按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 1 万个细菌或细胞在每 mL 反应体系中每分钟 A470nm 变化 0.01 为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{POD(U/10}^4\text{cell)} &= \Delta A \div 0.01 \times V_{\text{反总}} \div (500 \div V_{\text{样总}} \times V_{\text{样}}) \div T \\ &= 19.8 \times \Delta A \end{aligned}$$

北京百欧泰生物科技有限公司

Tel: 400-669-8850 Email: info@biotyscience.com

Address: 北京市房山区良乡凯旋大街建设路 18 号

B.用 96 孔板测定的计算公式如下:

1.按血清(浆)体积计算:

单位定义: 每 mL 血清 (浆) 在每 mL 反应体系中每分钟 A470nm 变化 0.005 定义为一个酶活力单位。

$$\text{POD 活性(U/mL)} = \Delta A \div 0.005 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div T = 9800 \times \Delta A$$

2.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 A470nm 变化 0.005 定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{POD 活性(U/mgprot)} &= \Delta A \div 0.005 \times V_{\text{反总}} \div (Cpr \times V_{\text{样}}) \div T \\ &= 9800 \times \Delta A \div Cpr \end{aligned}$$

3.按样本质量计算:

单位定义: 每 g 组织在每 mL 反应体系中每分钟 A470nm 变化 0.005 定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{POD 活性(U/g 质量)} &= \Delta A \div 0.005 \times V_{\text{反总}} \div (W \div V_{\text{样总}} \times V_{\text{样}}) \div T \\ &= 9800 \times \Delta A \div W \end{aligned}$$

4.按细菌或细胞数量计算

单位定义: 每 1 万个细菌或细胞在每 mL 反应体系中每分钟 A470nm 变化 0.005 定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{POD 活性(U/10}^4\text{cell)} &= \Delta A \div 0.005 \times V_{\text{反总}} \div (500 \div V_{\text{样总}} \times V_{\text{样}}) \div T \\ &= 19.6 \times \Delta A \end{aligned}$$

V 反总: 反应体系总体积, mL;

V 样: 加入反应体系中样本体积, mL;

V 样总: 加入提取液体积, mL;

Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL;

W: 样本质量, g;

500: 细菌或细胞数量, 500 万;

T: 反应时间, min。

注意事项:

- 1.本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床诊断或治疗，食品及化妆品等用途。请勿存放于普通住宅区。
- 2.为了您的安全和健康，请穿好实验服并佩戴一次性手套和口罩操作。
- 3.实验结果可由多种因素影响，相关处理只限于产品本身，不涉及其他赔偿。

Beijing Biotyscience Co. Ltd.

QQ: 499854788

3494243873

WeChat: 13681256816; 17731100244

Email: info@biotyscience.com

Tel: 400-669-8850

17731100244; 13681256816