

# 过氧化物酶(POD)检测试剂盒

## 微板法

本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断

# 使 用 说 明 书

货号: JL-T0902

有效期: 6个月

规格: 48T(48S)/96T(96S)

保存温度: 2-8°C

## 实验原理：

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  $H_2O_2$  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（货号：JL-T0336）。

## 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。

**产品组成:**

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°C
试剂一	12.5mL×1 瓶	25mL×1 瓶	2-8°C
试剂二	100μL×1 瓶	200μL×1 瓶	2-8°C
试剂三	100μL×1 瓶	200μL×1 瓶	2-8°C

**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，样本稀释液为提取液。
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 $^{\circ}$ C (哺乳动物) 或 25 $^{\circ}$ 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:**

- $V_{\text{反应}}$ : 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

**参考样本数据:**

以下数据仅供参考:

样本类型	稀释倍数	参考值
人血清 (10%匀浆)	不稀释	28U/mL
青椒 (10%匀浆)	不稀释	58.139U/mg prot
绿萝 (10%匀浆)	4 倍稀释	954.665U/mg prot
大鼠心脏 (10%匀浆)	2 倍稀释	17885.462U/g

本试剂盒中 BCA 法推荐稀释倍数:

样本类型	稀释倍数
青椒 (10%匀浆)	不稀释
绿萝 (10%匀浆)	5 倍稀释

咨询电话: 400-0066-400 网址: [www.jonln.com](http://www.jonln.com)

**咨询电话：400-0066-400**

**传 真：021-55660885**

**电子邮箱：shjls@163.com**

**网 址：www.jonln.com**