

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

过氧化物酶活性测定试剂盒 Peroxidase (POD) Activity Assay Kit

产品货号: BC00018

产品规格: 100T

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们:

✉ 邮箱 (销售) order@enkilife.cn

✉ 邮箱 (技术支持) tech@enkilife.cn

☎ 公司电话 027-87002838

🌐 网址 www.enkilife.cn



订阅微信公众号
获取更多技术
信息及前沿动态

保质期: 请见试剂盒外包装标签。

技术支持: 为了更好地给您提供服务, 联系时请告知产品外包装标签上批号。

基本信息

产品中文名称	过氧化物酶活性测定试剂盒
产品英文名称	Peroxidase (POD) Activity Assay Kit
检测方法	Colorimetric
样品类型	细胞、组织
检测类型	Enzyme activity
检测仪器及波长	酶标仪 (240 nm、532 nm)
检测范围	5-50U/mL
灵敏度	0.1414U/mL

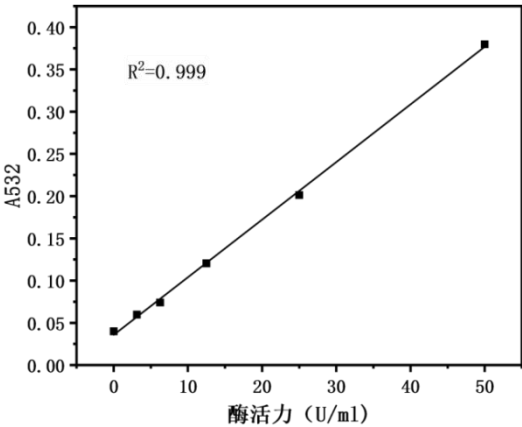
产品简介

本试剂盒通过显色反应来检测细胞、组织或其它样品中过氧化物酶(Peroxidase, POD)活性。过氧化物酶是一种常见的酶，在生物体内发挥着重要的氧化还原作用，广泛分布于肝脏、肾脏和红细胞中。

检测原理

在过氧化氢相对比较充足的情况下，过氧化物酶可以催化过氧化氢产生水和氧气。过氧化氢在过氧化物酶的催化下可以氧化显色底物，得到红色的产物，其最大吸收波长为 532nm。通过测定 A532 或与其相近波长的吸光度，与过氧化物酶标准品制作的标准曲线对照，可以计算出样品中的过氧化物酶活力。

下图展示了本试剂盒检测过氧物酶标准品的 A532 读数。



产品组分

产品名称	包装规格 (100T)	保存方式
过氧化物酶检测缓冲液	60ml	-20℃, 开瓶后也可以 4℃保存。
过氧化氢 (约 1M)	5ml	-20℃
显色底物	20ml	-20℃
过氧化物酶 (50U/ml)	200μl	-20℃
96 孔酶标板	1 板	RT
96 孔覆膜	2 张	RT

保存条件

未拆封的试剂盒可在 -20℃保存 12 个月。

实验前准备

• 样品处理

用适当的裂解液裂解细胞或组织。用本试剂盒提供的过氧化物酶检测缓冲液稀释样品，裂解好的样品至少加入等体积的过氧化物酶检测缓冲液进行稀释。稀释倍数需要根据样品的蛋白浓度进行调整，通常可以选择 1、10、20、50 倍等稀释进行初步尝试，使得样品检测吸光度在线性范围内。

• 试剂盒的准备工作

1. 配制 250mM 过氧化氢溶液

本试剂盒提供的过氧化氢浓度约为 1M。由于过氧化氢稳定性较差，使用前需自行测定过氧化氢的实际浓度。把浓度约为 1M 的过氧化氢用本试剂盒提供的过氧化物酶检测缓冲液稀释 100 倍，使过氧化氢的浓度约为 10mM。测定 A240。A240 的测定可采用如下的任一方法：

- a. 普通紫外分光光度计法：使用含比色皿架的紫外分光光度计、NanoDrop 2000C、NanoDrop One[®]、QuickDrop 等仪器，配套石英比色皿。确定比色皿光程(path length)，

一般为 1cm。用比色皿检测的过氧化氢浓度最接近实际浓度。

- b. 微量紫外分光光度计法：如 NanoDrop 2000、NanoDrop One、QuickDrop、含超微量检测板 μ Drop Plate 的 Varioskan 等仪器。确定光程：对于 NanoDrop 2000、NanoDrop One 等，需要取消“自动化光程”，此时光程一般为 0.1cm；Varioskan 的超微量检测板 μ Drop Plate 的光程一般为 0.05cm。具体的微量紫外分光光度计的光程请参考仪器参数。
- c. 96 孔紫外酶标仪法(须能检测 240nm 波长)：根据 96 孔板的参数确定光程，一般 200 微升样品的光程为 0.552cm (样品体积除以 96 孔单孔孔内横截面面积)。一般建议使用专用的 96 孔紫外检测板(如 96 孔 UV 板)，如果没有紫外检测板，也可使用一般的 96 孔板，但由于为非紫外检测专用板，会有非常高的紫外吸收信号，所以需要设置含等量双蒸水的孔作为空白对照(一般 200 μ l 水在该类 96 孔板的 A240 在 3.8 左右)，计算时须减去该空白对照。在使用非紫外检测专用板的情况下，由于 96 孔酶标仪在 240nm 的检测上限有限，建议将过氧化氢稀释至约 10mM 左右后再进行浓度测定。

注意：以上方法都需要设置等量双蒸水作为空白对照，并在计算时减去该空白对照。

过氧化氢浓度计算公式： $c=A/(\epsilon \times b)$ 。其中： c 为样品浓度(单位为 mol/L 或 M)； A 为吸光值； ϵ 为波长依赖的摩尔消光系数(单位为 $L \times \text{mol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$ 或 $M^{-1} \times \text{cm}^{-1}$)，过氧化氢的摩尔消光系数为 $43.6 M^{-1} \text{cm}^{-1}$ ； b = 光程(单位为 cm)。

因此：过氧化氢浓度(M) = $A_{240}/(43.6 \times b)$ ；即：过氧化氢浓度(mM) = $22.94 \times A_{240}/b$ 从而计算出本试剂盒提供的过氧化氢的实际浓度。然后再根据实际的过氧化氢浓度用过氧化物酶检测缓冲液稀释配制 250mM 过氧化氢溶液。

2. 配制 3.75mM 过氧化氢溶液

根据测定得到的实际过氧化氢浓度用过氧化物酶检测缓冲液稀释配制 3.75mM 过氧化氢溶液。

3. 溶解显色液

在冰浴上溶解显色底物，适当分装后再使用，尽量避免反复冻融。其它试剂放置在冰浴上备用。

操作流程

1. 标准曲线的测定

- (1) 将过氧化物酶稀释成 50、25、12.5、6.25、3.125、0（空白孔）U/ml 待用。
- (2) 配置标准孔显色工作液：取上述稀释好的过氧化物酶标准品与显色底物 1:1000 混合。
例如 1μL 的过氧化物酶与 1000μL 的显色底物混合。
- (3) 将上述稀释好的 3.75mM 过氧化氢加入 4μL 进酶标板中, 加入 200μL 显色工作液。
- (4) 室温孵育 15min, 检测 A532 吸光度。

2. 样品的测定

- (1) 配置测定孔显色工作液：取待测样本与显色底物 1:1000 混合。例如 1μL 的样品与 1000 μL 的显色底物混合。
- (2) 向酶标板中加入 4μL 3.75mM 过氧化氢, 再加入 200μL 样品与显色液混合后的混合液。
- (3) 室温孵育 15min, 检测 A532 吸光度, 也可测定其相近波长的吸光度。

操作表如下:

	标准孔	测定孔
3.75mM 过氧化氢(μL)	4	4
不同浓度的标准孔显色工作液(μL)	200	--
测定孔显色工作液(μL)	--	200
室温孵育 15min, 检测 532nm 处各孔 OD 值。		

结果计算

- 1. 利用标准品绘制标准曲线, 计算出过氧化物酶活力(x)和 A532(y)的关系, 得到计算公式, $y=kx+b$ 。其中 k 为线性拟合曲线的斜率, b 为截距。
- 2. 将样品孔的吸光度带入标准曲线中, 即可算得酶活力。

注意事项

- 1. 待测的过氧化物酶样品, 无论是纯的过氧化物酶还是细胞或组织裂解产物, 在 4℃ 通常

可以保存 1 周， -70℃ 可以长期保存， 但-20℃ 保存后过氧化物酶的活力会显著下降。

2. 过氧化氢稳定性差， 精确的过氧化氢浓度需参考本说明书中的方法进行测定。
3. 本产品仅限于专业人员的科学研究用， 不得用于临床诊断或治疗， 不得用于食品或药品， 不得存放于普通住宅内。