



# 过氧化物酶(POD)测试盒说明书(精简版)

(货号: A084-2-1 测血清、血浆 50 管/48 样)

## 一、测定原理:

利用过氧化物酶(POD)催化过氧化氢反应的原理,通过测定 420nm 处吸光度的变化得出其酶活性。

## 二、试剂的组成和配制: (试剂盒有效期 6 个月)

**试剂一:** 60mL 液体×2 瓶,4℃保存。

**试剂二:** 粉剂×2 瓶,4℃保存。临用前加入 10mL 双蒸水溶解配成应用液,4℃避光保存。

**试剂三:** 5mL 液体×1 瓶,4℃保存。**试剂三应用液的配制:** 临用前用双蒸水 15 倍稀释,使得试剂三应用液在 1cm 光径,双蒸水调零,波长 240nm 处吸光值保持在 0.4 左右,现用现配。若 A 值太高,则加双蒸水稀释,若 A 值太低,则加入适量试剂三。(一般在 25 倍左右稀释)

**试剂四:** 50mL 液体×1 瓶,4℃保存。

## 三、所需仪器及试剂:

可调 420nm 波长的可见分光光度计及 1cm 石英光径比色皿,以及可调 240nm 波长的紫外分光光度计,涡旋混匀器,离心机,37℃水浴锅,秒表,蒸馏水,生理盐水。

## 四、操作步骤:

	空白管	测定管
试剂一 (mL)	2.4	2.4
试剂二应用液 (mL)	0.3	0.3
试剂三应用液 (mL)	0.2	0.2
双蒸水 (mL)	0.1	
血清(浆) (mL)		0.1
37℃准确反应 30 分钟		
试剂四 (mL)	1.0	1.0
混匀后,3500 转/分离心 10 分钟,取上清于 420nm 处,1cm 光径,双蒸水调零,测定 OD。		

## 五、计算公式:

**1、单位定义:** 在 37℃条件下,每毫升血清(浆)每分钟催化 1μg 底物的酶量定义为一个酶活力单位。

**2、血清(浆)中过氧化物酶(POD)活力计算公式:**

$$\text{POD 活力 (U/mL)} = \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}}{12 \times d} \times \frac{V_{\text{反应}}}{V_{\text{样}}} \div T \times N \times 1000$$

**d:** 比色光径,cm;

**V<sub>反应</sub>:** 反应体系总体积,4mL;

**V<sub>样</sub>:** 取样量,0.1mL;

**T:** 反应时间,30 分钟;

**N:** 样本测试前稀释倍数。

## 附录 I: POD 标准曲线

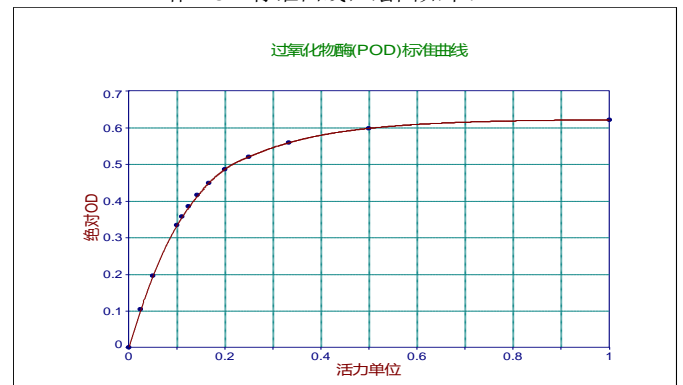
**1、试剂及配制:** 由南京建成生物工程研究所提供并按说明书配制。另取 POD 标准品,用双蒸水稀释成不同浓度,待测。

**2、按说明书操作表进行测定**

**3、测定结果:**

空白 OD 值	0.113					
活力单位	0.025	0.05	0.1	0.111	0.125	0.143
测定 OD 值	0.217	0.309	0.447	0.47	0.498	0.529
绝对 OD 值	0.104	0.196	0.334	0.357	0.385	0.416
活力单位	0.167	0.2	0.25	0.333	0.5	1
测定 OD 值	0.562	0.6	0.634	0.673	0.712	0.735
绝对 OD 值	0.449	0.487	0.521	0.56	0.599	0.622

以 POD 标准品 (U/mL) 为横坐标,以绝对 OD 值为纵坐标,作 POD 标准曲线,绘图如下:



(标准曲线仅供参考,用户无须制作)