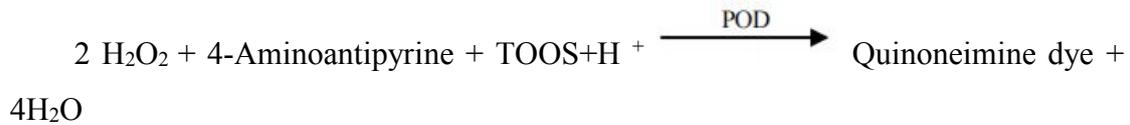


## PYOD 检测方法 (Pyruvat Oxidase)

### 1.原理



可以通过 565nm 的光吸收进行检测。

### 2.试剂:

#### R1:

1M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-NaOH buffer pH 6.7, 0.20ml

10mM Thiamine pyrophosphate, 0.02ml

1mM FAD Solution, 0.01ml

150U/ml POD, 0.05ml

15mM 4-AA, 0.10ml

纯水, 0.22ml

#### R2:

0.1%(V/V) TOOS Solution, 0.20ml

0.1M MgCl<sub>2</sub> Solution, 0.10ml

#### S:

1M Sodium pyruvate (丙酮酸钠)

#### H:

工作液: R1: R2: S=6: 3: 1

#### G:

酶稀释液: 10mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-NaOH buffer pH 7.0, 含 10U<sub>m</sub> FAD



### 3. 操作规程:

#### 3.1 仪器参数设定

若仪器中无已保存参数,按以下参数设定。若已有相关参数,调取后确认。

检测方法:动力学扫描

测量波长:565nm 测量时间:180s

延迟时间:60s 积分时间:120s

系数/因子:1.875 测量温度:37±0.5℃

#### 3.2 样品准备

若待测样品为固体,可以按 10mg 样品/1000ul 超纯水比例溶解。溶解后于室温放置 30min。

#### 3.3 检测方法

3.3.1 在石英比色皿中加入 0.6ml 试剂 H, 温浴 2min。

3.3.2 加入 20ul 样品,温和混匀后开始测定。

3.3.3 测定结束后,记录相应数值:起始读数、 $\Delta A/\text{min test}$ 、活性值 (U/ml)。

3.3.4 活性值 (U/ml) 范围为 0.05-0.15U/ml,若超出范围,待测样品需经试剂 G 稀释后再次进行检测。

3.3.5 测定样品前需检测空白反应值,即其他操作不变,用 20ul G 代替样品加入比色皿后进行反应 测定  $\Delta A/\text{min blank}$ 。

3.3.6 计算公式 活性(U/ml) =  $(\Delta A/\text{min test} - \Delta A/\text{min blank}) \times 1.875 \times \text{df}$  (稀释倍数)