

过氧化氢酶（CAT）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1037

保存：-20℃避光保存 6 个月

规格：48T/96T

适用样本：动植物组织、细胞、血清（浆）等液体样本

产品简介

过氧化氢酶（Catalase, CAT, EC 1.11.1.6）是一种常见的抗氧化酶，可催化过氧化氢（ H_2O_2 ）分解为水和氧，普遍存在于含有细胞色素系统的好氧细胞中。过氧化氢对细胞是高度有害的，其积累将导致细胞靶标（例如 DNA，蛋白质和脂质）的氧化，从而导致诱变和细胞死亡。通过使用过氧化氢酶从细胞中去除过氧化氢（ H_2O_2 ），可以防止细胞的氧化损伤。过氧化氢酶在氧化应激相关疾病中的作用已被广泛研究。过氧化氢酶还表现出过氧化物酶活性，其中低分子量醇可用作电子供体。脂肪醇是过氧化氢酶的特异性底物，然而，具有过氧化活性的其它酶不利用这些底物。本试剂盒提供了一种简单易用的比色法，用于分析不同生物样品中过氧化氢酶活性。原理是利用过氧化氢酶的过氧化物酶功能来测定过氧化氢酶的活性。在合适浓度的 H_2O_2 存在的条件下，过氧化氢酶与甲醇反应，产生甲醛，生成的甲醛可以与显色物反应，产物可以在 540nm 处测量吸光度，样本中的过氧化氢酶活性与 OD 值成正比。

产品内容

| 试剂盒组分 | 规格 | | 储存条件 |
|--------------|--------|--------|----------|
| | 48T | 96T | |
| 提取液（10×） | 5mL | 10mL | 4℃ |
| 样本稀释液（10×） | 5mL | 10mL | 4℃ |
| 反应缓冲液（10×） | 5mL | 10mL | 4℃ |
| 试剂一 | 2mL | 4mL | 4℃ |
| 试剂二 | 2mL | 4mL | 4℃ |
| 试剂三 | 0.5mL | 1mL | -20℃ |
| 试剂四 | 2mL | 4mL | -20℃避光保存 |
| 试剂五 | 1mL | 2mL | 4℃ |
| 甲醛标准品（4.25M） | 100 μL | 100 μL | 4℃ |

自备耗材

酶标仪或可见分光光度计（能测 540nm 处的吸光度）
 96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头
 离心机
 去离子水
 匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

注意：各组分（小管试剂）开盖前，请先低速离心。

提取液（1×）：去离子水 1:10 稀释后（5mL 10×提取液+45mL 去离子水），可在 4℃ 保存至少两个月。

产品说明书

样本稀释液 (1×): 样本稀释液 (10×) 去离子水 1:10 稀释后 (5mL 10×样本稀释液+45 mL 去离子水), 可用来稀释甲醛标准品和样本。该工作液可在 4℃ 保存至少两个月。

反应缓冲液 (1×): 反应缓冲液 (10×) 去离子水 1:10 稀释后 (2mL 10×反应缓冲液+18 mL 去离子水), 可在 4℃ 保存至少两个月。

试剂一: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4℃ 保存。

试剂二: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4℃ 保存。

试剂三: 用 9.96 mL 去离子水稀释 40 μ L 试剂三。稀释后的试剂三溶液可保存 2 h。

试剂四: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4℃ 保存。

试剂五: 即用型; 使用前, 平衡到室温; 4℃ 保存。

标准品制备: 用 9.99 mL 1×样本稀释液稀释 10 μ L 甲醛标准品, 得到 4.25mM 的储存液。按下表所示, 进一步稀释标准品。

| 标准品编号 | 4.25 mM 甲醛储存液体积 (μ L) | 1×样本稀释液体积 (μ L) | 甲醛终浓度 (μ M) |
|-------|----------------------------|----------------------|------------------|
| 1 | 4 | 996 | 2 |
| 2 | 10 | 990 | 5 |
| 3 | 30 | 970 | 15 |
| 4 | 60 | 940 | 30 |
| 5 | 90 | 910 | 45 |
| 6 | 120 | 880 | 60 |
| 7 | 150 | 850 | 75 |

注意: 终浓度 是指在 170 μ L 反应体系里的终浓度。

样本制备

动植物组织: 称取 0.1g 组织加入 1 mL 1×预冷的提取液将样本进行匀浆。匀浆后的样本, 在 4℃ 10,000g 离心 15min, 取上清液做进一步分析。

细胞: 收集 5×10^6 个细胞加入 1mL 预冷的 1×提取液, 冰上匀浆, 在 4℃ 10,000 g 离心 15min, 取上清液做进一步分析。

血清、血浆: 按常规方法收集血清, 1×样本稀释液稀释后即可作为血清样本进行检测; 用抗凝管收集血液, 颠倒混匀。4℃ 600g 离心 10min, 移取上清至另一新的离心管中, 适量 1×样本稀释液稀释后即可作为血浆样本进行检测。

注意: 建议使用新鲜样本。如果不立即使用, 可将样品在 -80℃ 下保存一个月。如需测定蛋白浓度, 推荐使用 BCA 蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

- 酶标仪或可见分光光度计预热 30 min 以上, 调节波长到 540nm, 可见分光光度计去离子水调零。
- 在 96 孔板或 EP 管中按照如下方式加样:

| 试剂 (μ L) | 空白 | 标准 | 测定 |
|---------------|-----|-----|-----|
| 1×反应缓冲液 | 100 | 100 | 100 |
| 试剂一 | 30 | 30 | 30 |
| 1×样本稀释液 | 20 | 0 | 0 |
| 标准品 | 0 | 20 | 0 |
| 样本 | 0 | 0 | 20 |
| 稀释后的试剂三 | 20 | 20 | 20 |

产品说明书

充分混匀，室温孵育 20min

| | | | |
|-----|----|----|----|
| 试剂二 | 30 | 30 | 30 |
| 试剂四 | 30 | 30 | 30 |

充分混匀，室温孵育 10min

| | | | |
|-----|----|----|----|
| 试剂五 | 10 | 10 | 10 |
|-----|----|----|----|

3. 充分混匀，室温孵育 5min，测定 540nm 处的吸光值 A（如有明显气泡可吸取清液 200uL 到新的 96 孔板或微量玻璃比色皿中，再进行测定，注意不要吸到上层气泡）。计算 $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ ， $\Delta A_{\text{标}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验，如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 大于 1.2，样本可用 1× 样本稀释液进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数；如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 小于 0.01，可增加样本量进行检测。

结果计算

1. 标准曲线绘制：

以甲醛标准溶液终浓度 (μM) 为 y 轴， $\Delta A_{\text{标}}$ 为 x 轴，绘制标准曲线（浓度为 y 轴更方便计算结果）。

2. 根据标曲计算样本产生的甲醛浓度

甲醛 (μM) = $y \times (0.17\text{mL} \div 0.02\text{mL}) = 8.5 \times y$ 。 μM 即 $\mu\text{mol/L} = 1\text{nmol/mL}$

3. 样本 CAT 活性计算

（1）按样本鲜重计算

活性单位的定义：25℃ 环境下，每 g 组织每分钟产生 1nmol 甲醛定义为一个酶活力单位。

$\text{CAT (U/g 鲜重)} = 8.5 \times y \div W \div T \times n = 4.25 \times y \times n$

（2）按细胞数量计算

单位的定义：25℃ 环境下，每 1 万个细胞每分钟产生 1nmol 甲醛定义为一个酶活力单位。

$\text{CAT (U/10}^4 \text{ cell)} = 8.5 \times y \div \text{细胞数量} \div T \times n = 8.5 \times y \div 500 \div T \times n = 0.00085 \times y \times n$

（3）按液体样本体积计算

单位的定义：25℃ 环境下，每 mL 液体样本每分钟产生 1nmol 甲醛定义为一个酶活力单位。

$\text{CAT (U/mL)} = 8.5 \times y \div T \times n = 0.425 \times y \times n$

（4）按样本蛋白浓度计算

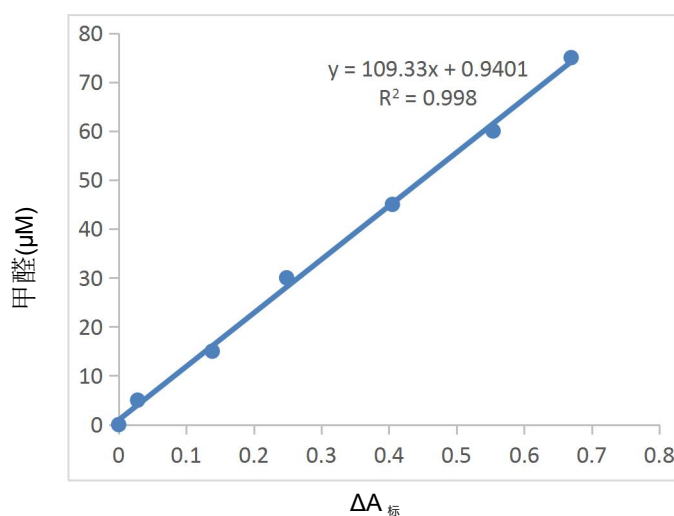
单位的定义：25℃ 环境下，每 mg 组织蛋白每分钟产生 1nmol 甲醛定义为一个酶活力单位。

$\text{CAT (U/mg prot)} = 8.5 \times y \div \text{Cpr} \div T \times n = 0.425 \times y \div \text{Cpr} \times n$

W: 样品质量, 0.1g; T: 反应时间, 20min; n: 样本稀释倍数; 500: 细胞数量, 500 万; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.02mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL。

结果展示

典型标准曲线-以下数据和曲线仅供参考，实验者需根据自己的实验建立标准曲线。



产品说明书

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

PMK1038 过氧化物酶 (POD) 检测试剂盒 (微量法)
PMK1036 超氧化物歧化酶 (SOD) 检测试剂盒 (微量法)
PMK1039 过氧化氢 (H₂O₂) 检测试剂盒 (微量法)



更多产品详情了解，请关注公众号：