

过氧化氢酶（CAT）检测试剂盒（紫外微板法）

产品货号：BA1600

产品规格：100T

产品简介

过氧化氢酶(Catalase, CAT)又称触酶,是一类以铁卟啉为辅基的结合酶,由四个相同亚单位组成的四聚体酶,共含4分子的亚铁血红素作为辅基,分子量约为24KD。CAT能将细胞代谢产生的毒性物质过氧化氢迅速清除,可与GSH-Px共同保护巯基酶、膜蛋白、过氧化氢解离。

过氧化氢酶(CAT)检测试剂盒(紫外微板法)其检测原理是血清或血浆等样本过 H_2O_2 在240nm处有强烈吸收,过氧化氢酶能分解过 H_2O_2 ,使待测溶液吸光度随反应时间而减少,通过紫外酶标仪测定240nm处吸光度,根据测定吸光度的变化速度即可测出过氧化氢酶的活性。该试剂盒主要用于测定植物组织、血清、血浆等样本中过氧化氢酶的活性。紫外法又称紫外分光光度计法或紫外吸收法,该酶的检测对于研究植物代谢强度及抗旱、抗病能力有一定的价值。该试剂盒仅用于科研领域,不宜用于临床诊断或其他用途。

产品内容:

试剂名称	100T	保存条件
试剂(A): H_2O_2 基液	2×1ml	4℃
试剂(B): CAT Assay buffer(2.5×)	2×250ml	4℃, 避光

需自备的仪器和用品:

1. 蒸馏水、生理盐水
2. 研钵或匀浆器
3. 离心管、离心机
4. 水浴锅或恒温箱
5. 96孔板、酶标仪

操作步骤（仅供参考）:

1. 配制CAT Assay buffer工作液:按CAT Assay buffer(2.5×):蒸馏水=1:1.5的比例稀释,即获得CAT Assay buffer工作液,4℃预冷待用。
2. 配制100mM H_2O_2 基液:本试剂盒提供的 H_2O_2 基液中的 H_2O_2 浓度约为1M。由于过氧化氢不是非常稳定,使用前需自行测定过氧化氢的实际浓度。把浓度约为1M的 H_2O_2 基液用CAT Assay buffer工作液稀释100倍,使 H_2O_2 浓度约为10mM。分光光度计测定 A_{240} (一般情况下,新配制的10mM H_2O_2 基液 A_{240} 在0.45左右,经过3个月以后 A_{240} 在0.42左右), H_2O_2 浓度(mM)=22.94× A_{240} 。从而计算出本试剂盒提供的 H_2O_2 基液中 H_2O_2 的实际浓度,然后根据实际的 H_2O_2 浓度,配制100mM H_2O_2 基液。
3. 准备样品:
 - ①植物、动物样品:取正常或逆境下的新鲜植物组织(或动物组织),清洗干净,擦干,切碎,迅速称取,按0.5g样品:2ml CAT Assay buffer工作液的比例,加入预冷的CAT Assay buffer工作液后匀浆或研磨,转移至15ml离心管。再用CAT Assay buffer工作液冲洗研钵或匀浆器,合并冲洗液至该离心管,补加CAT Assay buffer工作液至10ml。混匀,4℃冰箱中静置10min,转移离心管上部的清液至新的离心管。4℃ 1200 r/min离心30min,



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

上清液即为过氧化氢酶粗提液，4℃保存备用，用于CAT的测定。

②血浆、血清和尿液样品：血浆、血清按照常规方法制备，用生理盐水10倍稀释后，可以直接用于本试剂盒的测定，尿液通常也可以直接用于测定，-20℃冻存，亦可4℃短期保存，用于CAT的测定。

③高活性样品：如果样品中含有较高活性的CAT，可用CAT Assay buffer工作液稀释。

④(选做)样品准备完毕后可以用BCA蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度，以便于后续计算单位蛋白重量组织或细胞内的CAT含量。

4. CAT加样：取96孔板，按照下表设置空白孔、测定孔，溶液应按照顺序依次加入，并注意避免产生气泡。如果样品中的酶活性过高，可以减少样品用量或适当稀释后再进行测定，样品的测定最好设置平行复测孔。

加入物(μl)	空白管	测定孔 I	测定孔 II
CAT Assay buffer	120	120	120
待测样品(或提取液)	16	16	16
蒸馏水	80	80	80
单独取空白管煮沸1min，冷却至25℃。将其余测定管预热至25℃。			

5. CAT测定：加入100mM H₂O₂基液24μl，每加完一孔立即计时。亦可用排枪同时加样，以避免误差。蒸馏水调零，酶标仪测定240nm处各孔吸光度，每隔1min读数1次，共测4次，待全部测定完毕后，计算酶活力。

计算：

CAT活性单位定义：在25℃ 1min A₂₄₀减少0.1的过氧化氢酶量为一个CAT酶活力单位。根据酶活性定义，计算出样品中的CAT活性。

植物、动物组织中CAT活力[U/(g·min)]=(ΔA₂₄₀ × V_T × N)/(0.1 × V_S × t × W)

血清、血浆、尿液中CAT活力[U/(ml·min)]=(ΔA₂₄₀ × N)/(0.1 × V_S × t)

式中：ΔA₂₄₀ = A_{空白} - (A_{测定 I} + A_{测定 II})/2

A_{空白} = 空白的吸光度

A_{测定} = 待测样品最后比较稳定的吸光度

V_T = 提取酶液总体积(ml)

N = 待测样品检测前的稀释倍数

V_S = 测定时所用样品体积(ml)

t = 加H₂O₂基液到最后一次读数的反应时间(min)

W = 样品新鲜质量(g)

0.1 = A₂₄₀下降0.1时的一个酶活力单位

注意事项：

- 待测样品中不应含有CAT抑制剂，同时需避免反复冻融。
- CAT Assay buffer如出现沉淀或絮状物，可用50℃左右温水助溶，仍有絮状物应弃用。
- 完整的红细胞以及未稀释的溶血液中的过氧化氢酶置于4℃一周仍然很稳定，稀释后的溶血液中CAT容易失活。
- 尽量避免冰冻样品造成溶血，否则过氧化氢酶活性会下降10%-15%。
- 血清样品室温下3天内活性下降64.7%，4℃下降10.5%，-20℃保存30天活性仅下降3.5%。因此，待测样品均应-20℃或-70℃保存。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：12个月有效。常温运输，4℃保存。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com