

## 过氧化氢酶 (CAT) 检测试剂盒 (钼酸铵比色法)

产品货号: BA1597

产品规格: 50T/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(钼酸铵比色法)其检测原理是血清或血浆等样本在最佳酶反应条件下, 反应后剩余的 $H_2O_2$ 与钼酸铵形成稳定的黄色复合物, 其黄色深浅与酶活性成反比, 通过分光光度计或酶标仪测定405nm处吸光度。该酶的检测对于研究自由基代谢平衡、抗衰老和肿瘤发病机制具有一定的价值。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	50T	100T	保存条件
试剂(A): $H_2O_2$ 基液	2 × 1ml	3 × 1ml	4°C
试剂(B): CAT Assay buffer	52ml	104ml	4°C, 避光
试剂(C): MO显色液	50ml	100ml	4°C, 避光

### 操作步骤 (仅供参考):

1. 配制65mM  $H_2O_2$ 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 $H_2O_2$ 基液用本CAT Assay buffer稀释100倍, 使 $H_2O_2$ 基液中的 $H_2O_2$ 浓度约为10mM。
2. 准备样品:
  - ①细胞或组织样品: 取恰当细胞或组织进行裂解, 可以采用Western及IP细胞裂解液, 如有必要可进行适当匀浆, 低速离心取上清, -70°C冻存, 用于CAT的检测。
  - 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测定, -70°C冻存, 用于CAT的检测。
  - ③全血样品: 收集适量的全血至一抗凝管内, 颠倒混匀, 取100  $\mu$ l全血冻融一次, 用CAT Assay buffer 1000倍后进行CAT检测。
  - ④血液中的红细胞裂解液: 用抗凝管收集血液, 颠倒混匀。取至少500 $\mu$ l全血4°C 3000g离心5min, 弃上清, 沉淀用预冷的生理盐水洗涤3次。
  - ⑤高活性样品: 如果样品中含有较高活性的CAT, 可以使用CAT Assay buffer稀释。
  - ⑥(选做)样品准备完毕后可以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。
3. CAT检测: 按照下表设置空白管、自身对照管、测定管, 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, 样品的测定最好能设置平行管。

如果使用分光光度计, 反应体系设置如下:

加入物(ml)	空白管	自身对照管	测定管
---------	-----	-------	-----



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

CAT Assay buffer	0.1	-	-
待测样品	-	0.1	0.1
65mM H2O2基液(37℃预温5min)	1.0	1.0	1.0
立即混匀，置于水浴，准确孵育			
MO显色液	1.0	1.0	1.0

如果使用酶标仪（不推荐），反应体系设置如下：

加入物(ml)	空白管	自身对照管	测定管
CAT Assay buffer	0.01	-	-
待测样品	-	0.01	0.01
65mM H2O2基液(37℃预温5min)	0.1	0.1	0.1
立即混匀，置于37℃水浴，准确孵育			
MO显色液	0.1	0.1	0.1

4. CAT测定：分光光度计测定405nm处吸光度，分光光度计比色杯光径0.5cm。如果没有分光光度计，亦可用酶标仪测定，但如果有条件，尽量采用分光光度计测定；蒸馏水调零，读取各管吸光度值。一般应数小时内检测完毕。

#### 计算：

CAT活性单位的定义：在37℃ 1min催化水解1 $\mu$ mol过氧化氢量为一个CAT酶活力单位，根据酶活性定义，计算出样品中的CAT活性。

血清、血浆、尿液中CAT活力计算公式：

$$\text{血清样品CAT活力(U/ml)} = \{ (A_{\text{自身对照}} - A_{\text{测定}}) / A_{\text{空白}} \} \times 650 \times N$$

组织、细胞中CAT活力计算公式：

$$\text{组织样品CAT活力(U/mg)} = \{ (A_{\text{自身对照}} - A_{\text{测定}}) / A_{\text{空白}} \} \times 650 / \text{待测样品血红蛋白浓度(mg/ml)}$$

式中：  $A_{\text{自身对照}}$  = 自身对照的吸光度

$A_{\text{测定}}$  = 待测样品的吸光度

$A_{\text{空白}}$  = 空白的吸光度

N = 待测样品检测前的稀释倍数

植物组织中CAT活力计算公式：

$$\text{植物样品CAT活力(U/g)} = \{ (A_{\text{自身对照}} - A_{\text{测定}}) / A_{\text{空白}} \} \times 650 \times N \times V / m$$

式中：  $A_{\text{自身对照}}$  = 自身对照的吸光度

$A_{\text{测定}}$  = 待测样品的吸光度

$A_{\text{空白}}$  = 空白的吸光度

N = 待测样品检测前的稀释倍数

V = 提取液总体积(ml)

m = 植物样品的质量(g) = 0.5

#### 注意事项：

1. 本试剂盒亦可用酶标仪进行检测，但测定的样本数相应增多，如果有条件，尽量采用分光光度计测定。
2. 待测样品中不应含有CAT抑制剂，同时需避免反复冻融。
3. CAT Assay buffer如果出现浑浊或絮状物，应弃用。
4. MO显色液配置后可4℃稳定两周，如果出现乳白色物质应弃用，最好现用现配。
5. 对于植物样品研磨处理应迅速，以免CAT酶活下降，同时尽量置于冰浴状态处理；另外本法不推荐用于植物



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

样本CAT的检测，最好采用过氧化氢酶(CAT)检测试剂盒(紫外比色法)。

6. 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℃一周仍然较稳定，稀释后的溶血液中CAT容易失活。
7. 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%。
8. 血清样品室温下3天内活性下降64.7%，4℃条件下下降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。
9. 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>