

过氧化氢酶（CAT）活性检测试剂盒（钼酸铵微量法）

产品货号：BA2144

产品规格：100T/48S

产品简介：

CAT(EC1.11.1.6)广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中，是最主要的H₂O₂清除酶，在活性氧清除系统中具有重要作用。

H₂O₂可与钼酸铵反应形成稳定的黄色复合物，在405nm处有强烈吸收峰，且其吸光值大小与过氧化氢浓度成正比。通过测定反应体系中剩余的H₂O₂量，得出被CAT催化分解的H₂O₂量，进而反映CAT的活性。

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。

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体75mL×1瓶	2-8℃
试剂一	液体15mL×1瓶	2-8℃
试剂二	粉剂×2瓶	2-8℃
标准品	液体0.5mL×1瓶	2-8℃

溶液的配制：

1. 试剂二：临用前取1瓶试剂二加入12.5mL蒸馏水，充分溶解，用不完的试剂2-8℃保存一周。
2. 30μmol/mL标准品的配制：标准品置于试剂瓶内EP管中，使用前需先离心。本试剂盒所提供标准品为1mmol/mL H₂O₂标准品，临用前根据样本量按照标准品:试剂一=15μL:485μL(500μL，可做5次标准管或5个测定管)的比例配制，充分混匀，即为30μmol/mL标准品，现配现用。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、可调式移液器、恒温水浴锅、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵/匀浆器/细胞超声破碎仪、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 细菌、细胞或组织样本的制备：
 - 1) 细菌或培养细胞：收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照每500万细菌或细胞加入1mL提取液，超声波破碎细菌或细胞(功率200W，超声3s，间隔9s，重复30次)；8000g，4℃离心10min，取上清，置冰上待测。
 - 2) 组织：按照组织质量(g):提取液体积(V)=1:5~10(建议称取约0.1g组织，加入1mL提取液)进行冰浴匀浆。8000g，4℃离心10min，取上清，置冰上待测。
2. 血清(浆)样本：直接检测。

二、测定步骤

1. 分光光度计或酶标仪预热30min以上，调节波长至405nm，蒸馏水调零。
2. 测定前将30μmol/mL标准品与试剂一在25℃水浴10min以上。
3. 加样表：



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

试剂名称 (μL)	测定管	对照管	空白管	标准管
样本	20	20	-	-
提取液	-	-	20	20
30μmol/mL 标准品	100	-	-	100
试剂一	-	100	100	-
混匀, 25°C水浴锅中准确反应 10min。				
试剂二	180	180	180	180
混匀, 室温静置 10min, 取 200μL 于微量玻璃比色皿或 96 孔板中测定 405nm 处吸光值, 分别记为 A 测定、A 对照、A 空白、A 标准。计算 ΔA 测定 = A 测定 - A 对照, ΔA 标准 = A 标准 - A 空白, $\Delta A = \Delta A$ 标准 - AA 测定。空白管和标准管只需做 1-2 次。				

三、CAT 活性计算

1. 血清(浆)CAT 活力的计算:

单位的定义: 在 25°C 条件下, 每 mL 血清(浆)每分钟催化 1μmol H₂O₂ 降解定义为一个酶活力单位。

$$\text{CAT(U/mL)} = (A \div \Delta A \text{ 标准}) \times 30 \times V \text{ 标准} \div V \text{ 样} \div T \times F = 15 \times (\Delta A \div \Delta A \text{ 标准}) \times F$$

2. 组织、细菌或细胞中 CAT 活力计算

1) 按样本蛋白浓度计算:

单位的定义: 在 25°C 条件下, 每 mg 组织蛋白每分钟催化 1μmol H₂O₂ 降解定义为一个酶活力单位。

$$\text{CAT(U/mg prot)} = (\Delta A \div \Delta A \text{ 标准}) \times 30 \times V \text{ 标准} \div (Cpr \times V \text{ 样}) \div T \times F = 15 \times (\Delta A \div \Delta A \text{ 标准}) \div Cpr \times F$$

2) 按样本质量计算:

单位的定义: 在 25°C 条件下, 每 g 组织每分钟催化 1μmol H₂O₂ 降解定义为一个酶活力单位。

$$\text{CAT(U/g 质量)} = (\Delta A \div \Delta A \text{ 标准}) \times 30 \times V \text{ 标准} \div (V \text{ 样} \div V \text{ 样总} \times W) \div T \times F = 15 \times (\Delta A \div \Delta A \text{ 标准}) \div W \times F$$

3) 按细菌或细胞数量计算:

单位的定义: 在 25°C 条件下, 每 1 万个细菌或细胞每分钟催化 1μmol H₂O₂ 降解定义为一个酶活力单位。

$$\text{CAT(U/10}^4\text{cell)} = (\Delta A \div \Delta A \text{ 标准}) \times 30 \times V \text{ 标准} \div (V \text{ 样} \div V \text{ 样总} \times 500) \div T \times F = 0.03 \times (\Delta A \div \Delta A \text{ 标准}) \times F$$

30: 标准品浓度, 30μmol/mL; V 标准: 加入标准品体积, 0.1mL; V 样: 加入样本体积, 0.02mL; T: 反应时间, 10min; F: 样本稀释倍数; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; V 样总: 加入提取液体积, 1mL; W: 样本质量, g; 500: 细胞或细菌总数, 500 万。

注意事项:

1. 本试剂盒多给出 25mL 的提取液, 供样本稀释使用。
2. 如果反应液有大量气泡产生, 将样本用提取液稀释后再进行测定。
3. 如果样本量过多, 为保证反应时间(25°C, 10min)的准确性, 建议分成若干批次检测, 每批次检测均需配 1-2 个空白管与标准管。
4. 当 A 测定小于 0.12 或者约等于 A 对照时, 建议将样本用提取液稀释后再进行测定。
5. 动物组织如肝脏、肾脏等酶活性较高样本, 预实验建议将样本用提取液多个高倍稀释(如 25 倍、50 倍、100 倍、200 倍等)试验后, 再进行检测。



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