

过氧化氢酶（CAT）检测试剂盒（分光法）

货号：PMK1037BKS

保存：-20℃避光保存 12 个月

规格：25 管/24S 50 管/48S

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
	25 管	50 管	
提取液（10×）	3mL	6mL	4℃
样本稀释液（10×）	3mL	6mL	4℃
反应缓冲液（10×）	3mL	6mL	4℃
试剂一	10mL	20mL	4℃
试剂二	10mL	20mL	4℃
试剂三	0.5mL	1mL	-20℃
试剂四	10mL	20mL	-20℃避光保存
试剂五	5mL	10mL	4℃
甲醛标准品（4.25M）	100 μL	100 μL	4℃

自备耗材

可见分光光度计（能测 540nm 处的吸光度）

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（按 5mL 10×提取液+45mL 去离子水的比例），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 (按 5mL 10×样本稀释液+45 mL 去离子水的比例), 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 (按 2mL 10×反应缓冲液+18 mL 去离子水的比例), 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: 按 9.96 mL 去离子水稀释 40 μL 试剂三的比例。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 μL 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 (μL)	1×样本稀释液体积 (μL)	甲醛终浓度 (μM)
1	4	996	2
2	10	990	5
3	30	970	15
4	60	940	30
5	90	910	45

注意: 终浓度 是指在 1.7mL 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

1. 可见分光光度计预热 30min 以上, 调节波长到 540nm, 去离子水调零。

2. 在 5mL EP 管中按照如下方式加样:

试剂 (mL)	空白	标准	测定
1×反应缓冲液	1	1	1
试剂一	0.3	0.3	0.3
1×样本稀释液	0.2	0	0
标准品	0	0.2	0
样本	0	0	0.2
稀释后的试剂三	0.2	0.2	0.2
充分混匀, 室温孵育 20min			
试剂二	0.3	0.3	0.3

产品说明书

试剂四	0.3	0.3	0.3
充分混匀，室温孵育 10min			
试剂五	0.1	0.1	0.1

3. 充分混匀，室温孵育 5min，测定 540nm 处的吸光值 A（注意不要吸到气泡）。计算 $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ ， $\Delta A_{\text{标}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。该反应体系是按照常规的容量 3mL 左右的比色皿设计的，如果比色皿最适合的加样体积不是 2mL 左右，可以根据实际需要的体积按比例调整。

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，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 0.001，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) = $y \times (1.7\text{mL} \div 0.2\text{mL}) = 8.5 \times y$ 。 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

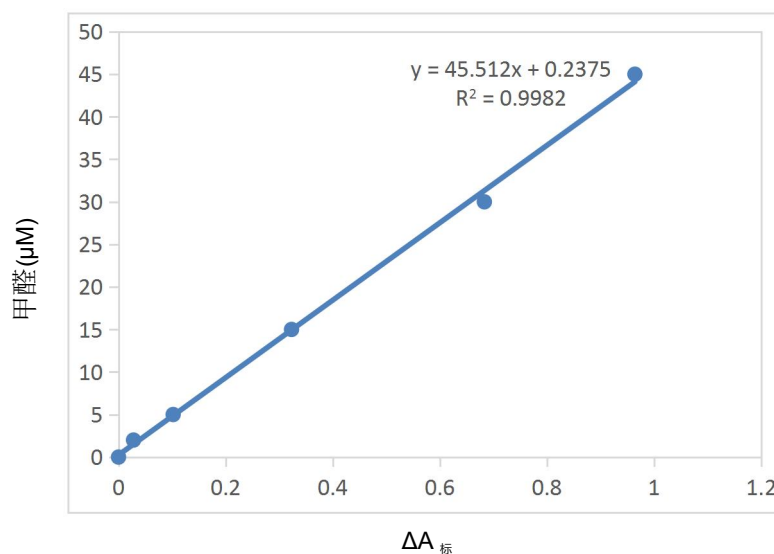
单位的定义：25℃ 环境下，每 mg 组织蛋白每分钟产生 1nmol 甲醛定义为一个酶活力单位。

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

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_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：

PMK1038BKS 过氧化物酶 (POD) 检测试剂盒 (分光法)
PMK1036BKS 超氧化物歧化酶 (SOD) 检测试剂盒 (分光法)
PMK1039BKS 过氧化氢 (H_2O_2) 检测试剂盒 (分光法)
PMK1051BKS 总抗氧化能力 (T-AOC) 检测试剂盒 (分光法)



更多产品详情了解，请关注公众号：