

## 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, 上清液即为过氧化氢酶粗提液, 4℃保存备用, 用于CAT的测定。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

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 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>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 A<sub>240</sub>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)]=(ΔA<sub>240</sub> × V<sub>T</sub> × N)/(0.1 × V<sub>S</sub> × t × W)

血清、血浆、尿液中CAT活力[U/(ml·min)]=(ΔA<sub>240</sub> × N)/(0.1 × V<sub>S</sub> × t)

式中：ΔA<sub>240</sub> = A<sub>空白</sub> - (A<sub>测定 I</sub> + A<sub>测定 II</sub>)/2

A<sub>空白</sub> = 空白的吸光度

A<sub>测定</sub> = 待测样品最后比较稳定的吸光度

V<sub>T</sub> = 提取酶液总体积(ml)

N = 待测样品检测前的稀释倍数

V<sub>S</sub> = 测定时所用样品体积(ml)

t = 加H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>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 = A<sub>240</sub> 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

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com