

Catalase (CAT) Assay Kit

过氧化氢酶 (CAT) 检测试剂盒

产品编号	产品名称	规格
BL856B	过氧化氢酶 (CAT) 检测试剂盒	196T

产品简介:

过氧化氢酶(CAT, EC 1.11.1.6)普遍存在于动物、植物、微生物和培养细胞中,其活性与生物体的代谢强度及抗寒、抗病能力有一定关系。本试剂盒提供一种简单,灵敏,快速的测定方法,即CAT催化过氧化氢产生水与氧气,剩余的过氧化氢与一种新型显色探针显色,其在510nm处有最大吸收峰。通过过氧化氢的减少量来计算样本中CAT酶的活力。

本试剂盒突出特点是从紫外波长(240nm:过氧化氢的检测波长)转换到可见波长(510nm)检测,无需使用石英比色皿或UV板。而且由于过氧化氢极其不稳定,直接检测造成读值不稳定,且蛋白质等组分在此紫外波长下也有光吸收,影响结果精确性。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 110mL×1 瓶	4°C保存	用前摇匀,且用蒸馏水稀释一倍后再使用。
试剂一	液体 100mL×2 瓶	4°C保存	
试剂二	液体×1 支	4°C保存	用前甩几下使试剂落入底部,取80μL至新离心管中,再加1.56mL蒸馏水混匀备用。
试剂三	液体 24mL×1 瓶	4°C保存	
试剂四	液体 60mL×1 瓶	4°C保存	
标准品	液体 1 mL×1 支	4°C保存	若重新做标曲,则用到该试剂

使用方法:

建议正式实验前,选取2个样本做预测定,了解实验样品情况,熟悉流程,避免样本和试剂浪费!

一、样本准备:

1. 组织样本准备:

- 称取约0.1g样本组织(水分充足的样本可取0.5g),加入1mL提取液,进行冰浴匀浆;
- 10000-12000g, 4°C离心10min,取上清液,置冰上待测。

【注】:若增加样本量,可以按照组织质量(g):提取液为1:5~10的比例提取

2. 细菌/细胞样本准备:

- 收集细菌或细胞到离心管内,离心弃上清;
- 取 5×10^6 个细菌或细胞加入1mL提取液,超声波破碎细菌或细胞(冰浴,强度20%或200W,超声3S,间隔10S,重复30次);
- 10000-12000g, 4°C离心10min,取上清液,置冰上待测。

【注】:若增加样本量,可按照每 $5 \sim 10 \times 10^6$ 个细菌/细胞加入1mL提取液进行提取

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意:在体外研究使用,不用于诊断或治疗用途,本产品不是医疗装置。



3. 液体样本准备:

澄清的液体直接检测; 若浑浊则离心后取上清检测。

二、样品测定:

1. 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 510nm。
2. 试剂二事先按照试剂配制要求配制好, 再进行以下操作。
3. 在离心管中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	10	-
试剂一	70	80
试剂二	20	20
混匀, (观察有气泡产生, 酶活性越大, 则气泡越多), 室温 25°C 准确反应 5min。		
试剂三	100	100
混匀后, 立即取 10μL 混合液		

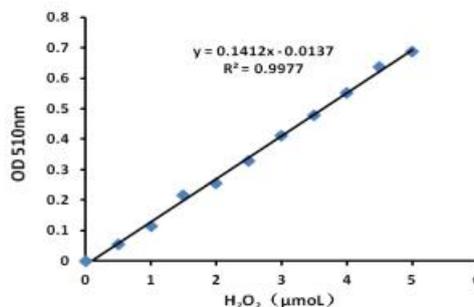
4. 显色反应:

试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
混合液	10	10
试剂一	900	900
试剂四	290	290
混匀, 室温 25°C 反应 5min, 取 200μL 转移到 96 孔板中, 510nm 处测定吸光值 A, $\Delta A = A_{\text{空白}} - A_{\text{测定}}$ 。		

- 【注】:**
1. 空白管的颜色最深, 若测定管颜色很浅接近无色, 说明样本里面过氧化氢酶活性高, 则可减少样本加样量 V1 (如减至 5μL, 则试剂一相应增加, 保持总体积不变), 或减少反应时间 T (如由 5min 减至 1min)。则改变后的反应时间 T 和加样量 V1 需重新代入公式计算。
 2. 若测定管颜色与空白管颜色接近, 即 ΔA 在零附近, 说明样本里面过氧化氢酶活性低, 则可增加样本加样量 V1 (如增至 50μL, 则试剂一相应减少, 保持总体积不变), 或增加反应时间 T (如由 5min 增至 10min 或更长)。则改变后的反应时间 T 和加样量 V1 需重新代入公式计算。

三、含量计算

1. 标准曲线方程: $y = 0.1412x - 0.0137$; x 为 H₂O₂ 标准品(μmol), y 为 ΔA 。



2. 按样本鲜重计算:

酶活定义: 在 25°C, 每克组织每分钟催化分解 1μmol H₂O₂ 定义为一个酶活单位 (U)。

$$\text{CAT}(\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = [(\Delta A + 0.0137) \div 0.1412] \div (W \times V1 \div V) \div T$$

$$= 141.6 \times (\Delta A + 0.0137) \div W$$

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



3. 按样本蛋白浓度计算:

酶活定义: 在 25°C, 每毫克组织蛋白每分钟催化分解 1 μ mol H₂O₂ 定义为一个酶活单位(U)。

$$\text{CAT}(\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg prot}) = [(\Delta A + 0.0137) \div 0.1412] \div (V1 \times \text{Cpr}) \div T \\ = 141.6 \times (\Delta A + 0.0137) \div \text{Cpr}$$

4. 按细胞数量计算:

酶活定义: 在 25°C, 每 10⁴ 个细胞每分钟催化分解 1 μ mol H₂O₂ 定义为一个酶活单位 (U)。

$$\text{CAT 酶活}(\mu\text{mol}/\text{min}/10^4 \text{ cell}) = [(\Delta A + 0.0137) \div 0.1412] \div (500 \times V1 \div V) \div T \\ = 0.283 \times (\Delta A + 0.0137)$$

5. 按照液体体积计算:

酶活定义: 在 25°C, 每毫升液体每分钟催化分解 1 μ mol H₂O₂ 定义为一个酶活单位 (U)。

$$\text{CAT}(\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mL}) = [(\Delta A + 0.0137) \div 0.1412] \div V1 \div T \\ = 141.6 \times (\Delta A + 0.0137)$$

V---加入提取液体积, 1 mL

T---反应时间, 5min

500---细胞数量

V1---加入样本体积, 0.01mL

W---样本质量, g

Cpr---样本蛋白质浓度, mg/mL

附: 标准曲线制作过程:

- 1 制备标准品母液 (250mM)
- 2 把母液稀释成以下浓度: 0, 50, 100, 150, 200, 250mM。也可根据实际来调整浓度。
- 3 20 μ L 标准品+80 μ L 试剂一+100 μ L 试剂三, 混匀后, 取 10 μ L 混合液, 按照显色反应阶段测定管加样体系操作, 依据结果即可制作标准曲线

注意事项:

- 1、本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品。
- 2、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:

4°C保存六个月。

