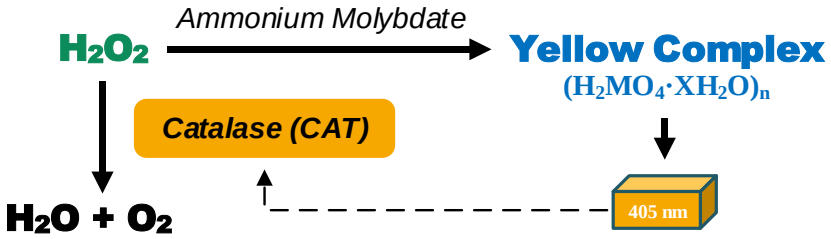
过氧化氢酶（CAT）活性检测试剂盒（钼酸铵比色法）

Catalase (CAT) Activity Assay Kit (Ammonium Molybdate Method)



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Catalog Number **AKAO003-2C**
Storage Temperature **2-8°C**
Size **70T/25S**

Visible Spectrophotometry

过氧化氢酶（CAT）活性检测试剂盒（钼酸铵比色法）

Catalase (CAT) Activity Assay Kit (Ammonium Molybdate Method)

一、产品描述

过氧化氢酶（CAT）广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中，是生物演化过程中建立起来的生物防御系统关键酶，其主要功能是催化生物体内的 H_2O_2 分解，使机体免受自由基损伤，在活性氧清除系统中具有重要作用。

H_2O_2 能够氧化 MoO_4^{2-} 生成 MoO_5^{2-}，MoO_5^{2-} 接受氢氧根的电子成键，分子间立即脱水缩合，分子内形成氢键，得到稳定的黄色复合物 $(H_2MoO_4 \cdot XH_2O)_n$，产物在 405 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征过氧化氢酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
提取液	液体 60 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂一	液体 8 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂二	液体 100 μL×1 支	4°C避光保存	**使用前按照试剂二：试剂一 ＝1:99 的体积比配制** （现用现配，配制后 4°C可保存一周）
试剂三	液体 25 mL×1 瓶	RT	**若有结晶析出，37°C水浴溶解后使用**
试剂四	液体 60 mL×1 瓶	4°C保存	-
标准液	液体 1 mL×1 支	4°C避光保存	**1 mmol/mL H_2O_2 标准液**
标准稀释液的制备：将 1 mmol/mL H_2O_2 标准液使用蒸馏水稀释至 100、80、60、40、20、10 μmol/mL 即为标准稀释液。			

序号	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度（μmol/mL）	1000	1000	1000	1000	40	20
标准液体积（μL）	100	80	60	40	200	200
蒸馏水体积（μL）	900	920	940	960	200	200
稀释后浓度（μmol/mL）	100	80	60	40	20	10

Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿（光径 10 mm）、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1.粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管中，按照细菌或细胞数量（10^4 个）：提取液体积（mL）为（500-1000）：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次），4℃ 8000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

②组织：按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，4℃ 8000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③血清（浆）、培养液等液体样本：直接检测或适当稀释后再进行检测。

2.测定步骤

①分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 405 nm，蒸馏水调零。

②在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管（μL）	对照管（μL）	标准管（μL）	空白管（μL）
粗酶液	100	-	-	-
标准稀释液	-	-	100	-
蒸馏水	-	-	100	200
试剂二	100	100	-	-
充分混匀，25℃准确反应2 min				
试剂三	300	300	300	300
试剂四	800	800	800	800
粗酶液	-	100	-	-

吸光值测定：吸取 1 mL 反应液至 1 mL 玻璃比色皿中，测定 405 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白；计算 ΔA 测定=A 对照-A 测定，ΔA 标准=A 标准-A 空白。注：空白管只需测定 1-2 次，每个样品均需设一个对照管。

标准曲线的建立：以 100、80、60、40、20、10 μmol/mL 为横坐标（x），以其对应的ΔA 标准为纵坐标（y），绘制标准曲线，得到标准方程 y=kx+b，将ΔA 测定带入公式中得到 x（μmol/mL）。

Not for further distribution without written consent. Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

3.过氧化氢酶（CAT）活性计算

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟催化 1 μmol H_2O_2 降解定义为一个酶活力单位。

$$CAT（U/mg\ prot）= \frac{x \times V_{S2}}{Cpr \times V_{样} \times T} = \frac{0.5 \times x}{Cpr}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟催化 1 μmol H_2O_2 降解定义为一个酶活力单位。

$$CAT（U/g）= \frac{x \times V_{S2} \times V_{样总}}{W \times V_{样} \times T} = \frac{0.5 \times x}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每分钟催化 1 μmol H_2O_2 降解定义为一个酶活力单位。

$$CAT（U/10^4\ cell）= \frac{x \times V_{S2} \times V_{样总}}{细菌或细胞数量 \times V_{样} \times T} = \frac{0.5 \times x}{细菌或细胞数量}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟催化 1 μmol H_2O_2 降解定义为一个酶活力单位。

$$CAT（U/mL）= \frac{x \times V_{S2}}{V_{样} \times T} = 0.5 \times x$$

注释：V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.1 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V_{S2}：反应体系中加入试剂二的体积，0.1 mL；W：样本质量，g；Cpr：粗酶液蛋白浓度，mg/mL；细菌或细胞数量：以万计；T：反应时间，2 min。

四、注意事项

①若测定吸光值超出标准吸光值线性范围：高于最高值建议适当增加样本量重新提取后再进行测定，低于最低值建议将粗酶液使用提取液适当稀释后再进行测定，计算时相应修改；

②为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.