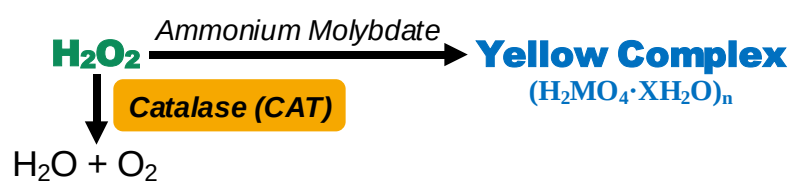




过氧化氢酶（CAT）活性检测试剂盒（钼酸铵比色法）

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.



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 120 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂一	液体 5 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	液体 60 μ L×1 支	4°C 避光保存	根据使用量按试剂二:试剂一=1:99 的体积比配制 (即为试剂二应用液，配制后 4°C 可保存一周)
试剂三	液体 15 mL×1 瓶	室温保存	若有结晶析出，37°C 水浴溶解后使用
试剂四	液体 40 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（现用现配）：使用前将 1 mmol/mL H_2O_2 标准液使用蒸馏水稀释至 150、100、80、40、20、10 μ mol/mL 即为标准稀释液。			

序号	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度 (μ mol/mL)	1000	1000	1000	80	40	20
标准液体积 (μ L)	150	100	80	200	200	200
蒸馏水体积 (μ L)	850	900	920	200	200	200
稀释后浓度 (μ mol/mL)	150	100	80	40	20	10

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：酶标仪、96 孔板、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。

②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 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。

③血清（浆）、培养液等液体样本：直接检测或使用提取液适当稀释后再进行检测。

2.测定步骤

①酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 405 nm。

②在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μ L)	对照管 (μ L)	标准管 (μ L)	空白管 (μ L)
粗酶液	20	-	-	-
标准稀释液	-	-	20	-
蒸馏水	-	-	20	40
试剂二应用液	20	20	-	-
充分混匀，25℃准确反应 2 min				
试剂三	60	60	60	60
试剂四	160	160	160	160
粗酶液	-	20	-	-

吸光值测定：吸取 200 μ L 反应液至 96 孔板中，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：每个样品均需设一个对照管，各浓度标准管和空白管只需测定 1-2 次。

标准曲线的建立：以 150、100、80、40、20、10 μ mol/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（ μ mol/mL）。

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。

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

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。

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

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。

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

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。

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

注释： V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.02 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL； V_{S2} ：反应体系中加入试剂二应用液的体积，0.02 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延长酶促反应时间（25℃准确反应时间）或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.

