

Catalase Assay Kit 过氧化氢酶检测试剂盒

产品简介

Catalase Assay Kit 过氧化氢酶检测试剂盒是一种简单快速、可通过测试吸光度来检测动物血清、血浆、组织以及全血、红细胞、培养细胞、培养液中的过氧化氢酶 (CAT) 的活力。过氧化氢酶 (CAT) 催化 H_2O_2 分解为水和氧气, 当加入钼酸铵后, 反应迅速终止, 剩余的 H_2O_2 与试剂盒中的钼酸铵发生络合反应, 得到淡黄色的产物。这个黄色产物的最大吸收波长是 405 nm。所以, 可以通过检测 405 nm 处的吸光度, 来测定样品中的过氧化氢酶 (CAT) 的活力。

羟基自由基 ($OH\cdot$) 是很活泼的活性氧, 它能与细胞内的许多有机物、核酸、有机酸等等发生氧化反应, 破坏性极强。过氧化氢酶 (CAT) 广泛分布在血清、血浆、红细胞等中, 能分解活性氧, 保护细胞免受破坏, 因而测定过氧化氢酶 (CAT) 的活力至关重要。

产品信息

货号	50108ES60
规格	100 T

组分信息

组分名称	50108-A (试剂一)	50108-B (试剂二)	50108-C (试剂三)	50108-D (试剂四)
规格	100 mL	10 mL	7 g	10 mL

储存条件

2~8 °C 避光保存, 保质期 6 个月。

使用说明

1. 溶解试剂三: 向试剂三 (显色粉剂) 中加入 100 mL 的双蒸水溶解; 放入 2~8°C 冰箱避光保存。(如果底部有不溶的粉末沉淀, 直接取上清即可, 不影响实验结果)

2. 预热: 实验之前, 先将试剂盒中的试剂一和试剂二放在 37 °C 水浴锅中预热 10~20 min, 以备后用。

3. 加样品, 检测吸光度:

A. 血清、血浆样本吸光度检测:

血清、血浆样本		
	实验组	对照组
试剂一 (37 °C 预热)	1.0 mL	1.0 mL
试剂二 (37 °C 预热)	0.1 mL	0.1 mL
血清/血浆	0.1 mL	
混匀后, 在 37 °C 中准确加热 1 min (注意: 一定要准确加热反应 1 min), 然后加试剂三和试剂四;		
试剂三	1.0 mL	1.0 mL
试剂四	0.1 mL	0.1 mL

血清/血浆	0.1 mL
混匀，在光径为 0.5 cm，波长为 405 nm 处，双蒸水调零，检测吸光度。	

B. 全血、红细胞样本吸光度检测：

1) 1: 99 溶血液配制：向 50 μ L 全血或红细胞样本中加双蒸水至 5 mL，混匀，放置 10 min，待测；

2) 检测吸光度：

全血、红细胞样本			
	实验组	空白对照组	自身对照组
蒸馏水		0.05 mL	2.1 mL
1: 99 溶血液	0.05 mL		0.05 mL
试剂一 (37 $^{\circ}$ C 预热)	1.0 mL	1.0 mL	
试剂二 (37 $^{\circ}$ C 预热)	0.1 mL	0.1 mL	
混匀后，在 37 $^{\circ}$ C 中准确加热 1 min (注意：一定要准确加热反应 1 min)，然后加试剂三；			
试剂三	1.0 mL	1.0 mL	
混匀，在光径为 0.5 cm，波长为 405 nm 处，双蒸水调零，检测吸光度。			

C. 组织样本吸光度检测：

1) 组织匀浆液制备：按组织重量 (g) : 生理盐水体积 (mL) = 1:9 的比例，在冰水浴条件下，制备成 10% 的组织匀浆，2500 r/min 离心 10 min，取上清；再用生理盐水稀释到最佳取样浓度，一般稀释成：5%、2%、1%、0.5%、0.25%、0.1% 等不同的取样浓度，其中小鼠肝脏匀浆取样浓度为 0.25% ~ 1%。

2) 检测吸光度：

组织样本		
	实验组	对照组
试剂一 (37 $^{\circ}$ C 预热)	1.0 mL	1.0 mL
试剂二 (37 $^{\circ}$ C 预热)	0.1 mL	0.1 mL
组织匀浆	0.05 mL	
混匀后，在 37 $^{\circ}$ C 中准确加热 1 min (注意：一定要准确加热反应 1 min)，然后加试剂三和试剂四；		
试剂三	1.0 mL	1.0 mL
试剂四	0.1 mL	0.1 mL
组织匀浆		0.05 mL
混匀，在光径为 0.5 cm，波长为 405 nm 处，双蒸水调零，检测吸光度		

4. 过氧化氢酶活力计算

A. 血清、血浆中过氧化氢酶 (CAT) 活力计算 (每毫升血清或血浆每秒钟分解 1 μ mol H_2O_2 的量为一个活力单位)

$$\text{血清中过氧化氢酶活力 (U/mL)} = (\text{对照组 OD 值} - \text{实验组 OD 值}) \times \frac{271}{60s \times \text{取样量 (mL)}} \times \text{样本测试前稀释倍数}$$

B. 血红蛋白中过氧化氢酶 (CAT) 活力计算 (每毫克血红蛋白每秒钟分解 1 μmol H_2O_2 的量为一个活力单位)

$$\text{溶血液中过氧化氢酶活力 (U/mgHb)} = (\text{空白对照组 OD 值} + \text{自身对照组 OD 值} - \text{实验组 OD 值}) \times \frac{271}{60s \times \text{取样量 (mL)}} \\ \div \text{血红蛋白浓度 (mgHb/mL)}$$

C. 组织匀浆中过氧化氢酶 (CAT) 活力计算 (每毫克组织蛋白每秒钟分解 1 μmol H_2O_2 的量为一个活力单位)

$$\text{组织匀浆中过氧化氢酶活力 (U/mgprot)} = (\text{对照组 OD 值} - \text{实验组 OD 值}) \times \frac{271}{60s \times \text{取样量 (mL)}} \div \text{待测样本蛋白浓度 (mgprot/mL)}$$

注意事项

1. 加入试剂一和试剂二之前, 要进行 37 $^{\circ}\text{C}$ 预热。
2. 试剂三溶解、保存后, 使用前有沉淀, 直接取上清即可, 不影响实验结果。
3. 当天冷时试剂四会凝固, 使用前 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴加热至透明即可。
4. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。
5. 本产品仅作科研用途!