

过氧化氢酶CAT酶活性检测试剂盒（比色法）

产品货号：BA2477

产品规格：96次

产品简介：

过氧化氢酶检测试剂盒（Catalase Assay Kit）是一种特异灵敏的检测过氧化氢酶（Catalase）酶活力的试剂盒。Catalase是一种广泛存在于需氧细胞内的抗氧化酶，通过催化过氧化氢（ H_2O_2 ）分解为氧气和水，降低生理和病理状态下产生的活性氧对细胞的损伤。

本试剂盒利用Catalase催化 H_2O_2 分解，然后利用过氧化物酶（Peroxidase）催化剩余 H_2O_2 与OxiRed探针反应生成可以通过比色法或荧光法检测到的产物，从而定量分析Catalase酶活力。

本试剂盒通过比色法（OD570nm）检测Catalase的线性范围为0.001-0.01U/ml，灵敏度 ≤ 0.001 U/ml；通过荧光法（ex535nm-em587nm）检测Catalase的线性范围为0.0001-0.001U/ml，灵敏度 ≤ 0.0001 U/ml。

本试剂盒能够检测细胞培养上清、细胞裂解上清、组织裂解上清、血浆和血清中的Catalase酶活力。

试剂盒组成：

组份名称	规格
Lysis Buffer	50ml
Catalase Assay Buffer	25ml
H_2O_2 Solution (0.88M)	0.5ml
OxiRed Solution	60 μ l
Peroxidase	60 μ l
Catalase	60 μ l

需要而未提供的试剂及器材：

1. 超纯水
2. 系列可调节量程移液器及吸头
3. 离心管、透明（比色法）或黑色（荧光法）96孔板
4. 多功能酶标仪

测定前准备：

1. 样品的准备
 - (1) 细胞培养上清的准备：将需要测定的细胞接种到培养板中，经过干预因素处理后，直接吸取细胞上清，如果是悬浮细胞，4 $^{\circ}$ C、300g离心5分钟，收集上清。
 - (2) 细胞裂解上清的准备：将需要测定的细胞(1×10^6 - 1×10^7)收集到2ml的离心管中，4 $^{\circ}$ C、300g离心5分钟，弃去上清，然后加入200 μ l的Lysis Buffer，冰浴裂解30min，4 $^{\circ}$ C、10000g离心10分钟，收集上清。
 - (3) 组织裂解上清的准备：将需要测定的组织(20-50mg)收集到玻璃匀浆器或自动匀浆管中，然后加入0.5ml的Lysis Buffer，匀浆1min，4 $^{\circ}$ C、10000g离心10分钟，收集上清。
 - (4) 血浆样品的准备：取新鲜抗凝血液，4 $^{\circ}$ C、1000g离心10分钟，上清为血浆。
 - (5) 血清样品的准备：取新鲜血液，室温凝固30min，4 $^{\circ}$ C、1000g离心10分钟，上清为血清。

2. 试剂盒的准备

Catalase检测工作液的配制：根据待测样品数参考下表配制适量的Catalase检测工作液，表中试剂按比例混合后即为Catalase检测工作液。



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

	1个样品	10个样品	50个样品
Catalase Assay Buffer	49μl	0.49ml	2.45ml
OxiRed Solution	0.5μl	5μl	25μl
Peroxidase	0.5μl	20μl	25μl

3. 标准品的准备

比色法标准品的准备：在 1.5ml 离心管中，加入 870μl Catalase Assay Buffer，取 10μl 的 0.88M 浓度 H₂O₂ 标准品加入离心管中配制 10mM 浓度 H₂O₂ 标准品；然后取另一 1.5ml 离心管，加入 980μl Catalase Assay Buffer，取 20μl 的 10mM 浓度 H₂O₂ 标准品加入离心管中配制 200μM 浓度 H₂O₂ 标准品；另外 6 根 1.5ml 离心管，分别加入 500μl Catalase Assay Buffer，再吸取 500μl 的 200μM 浓度 H₂O₂ 标准品依次倍倍稀释为 100、50、25、12.5、6.25、3.12μM 浓度。

荧光法标准品的准备：在 1.5ml 离心管中，加入 870μl Catalase Assay Buffer，取 10μl 的 0.88M 浓度 H₂O₂ 标准品加入离心管中配制 10mM 浓度 H₂O₂ 标准品；然后取另一 1.5ml 离心管，加入 990μl Catalase Assay Buffer，取 10μl 的 10mM 浓度 H₂O₂ 标准品加入离心管中配制 100μM 浓度 H₂O₂ 标准品；再取另一 1.5ml 离心管，加入 800μl Catalase Assay Buffer，取 200μl 的 100μM 浓度 H₂O₂ 标准品加入离心管中配制 20μM 浓度 H₂O₂ 标准品；另外 6 根 1.5ml 离心管，分别加入 500μl Catalase Assay Buffer，再吸取 500μl 的 20μM 浓度 H₂O₂ 标准品依次倍倍稀释为 10、5、2.5、1.25、0.625、0.312μM 浓度。

测定方法：

1. H₂O₂ 标准曲线测定：利用上述系列浓度 H₂O₂ 标准品，参考下表，测定 H₂O₂ 标准曲线。

	空白对照	标准品
Lysis Buffer	50μl	50μl
Catalase Assay Buffer	50μl	-
H ₂ O ₂ 标准品	-	50μl
Catalase 检测工作液	50μl	50μl
25°C 孵育	1min	1min

注：在上述反应体系中，比色法测定中 H₂O₂ 标准品加入 96 孔板中的量分别为 10、5、2.5、1.25、0.625、0.312、0.156nmol。荧光法测定中 H₂O₂ 标准品加入 96 孔板中的量分别为 1、0.5、0.25、0.125、0.062、0.031nmol。

2. 样品测定：参考下表，使用透明（比色法）或黑色（荧光法）96 孔板，首先加入 Lysis Buffer、Catalase 对照或样品，然后加入 H₂O₂ Solution，25°C 反应 10 分钟，最后加入 Catalase 检测工作液，25°C 反应 1 分钟。

	空白对照孔	H ₂ O ₂ 对照孔	Catalase 对照孔	样品孔
Lysis Buffer	50μl	50μl	-	--
Catalase 对照	-	-	50μl	
样品	-	-	-	50μl
Catalase Assay Buffer	50μl	-	-	-
H ₂ O ₂ Solution	-	50μl	50μl	50μl
25°C 孵育	10min	10min	10min	10min
Catalase 检测工作液	50μl	50μl	50μl	50μl
25°C 孵育	1min	1min	1min	1min

注：比色法中加入 H₂O₂ Solution 浓度为 200μM，荧光法中加入 H₂O₂ Solution 浓度为 20μM；对于 Catalase 对照孔，比色法测定中，利用 Lysis Buffer 将试剂盒中 Catalase 原液稀释 10 倍，然后加入 Catalase 对照孔 50μl；荧光法测定中。利用 Lysis Buffer 将试剂盒中 Catalase 原液稀释 100 倍，然后加入 Catalase 对照孔 50μl。

3. 待反应完成后，比色法利用酶标仪测定 570nm 波长的吸光度，荧光法测定 ex535nm-em587nm 的荧光值，当样品中 Catalase 酶活力偏低时，请选择荧光法测定，另外可以适当延长加入 H₂O₂ Solution 后 Catalase 催化反应的时间。



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

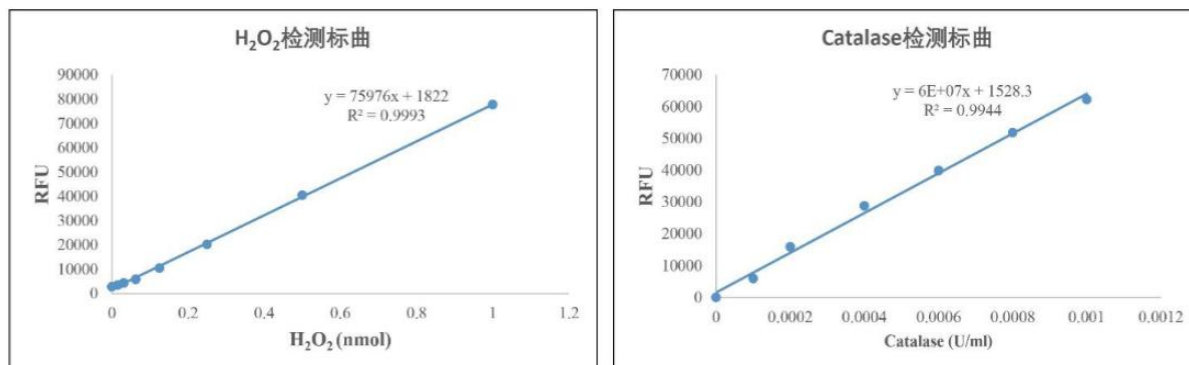
免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

数据处理:

利用 H_2O_2 标准品的量为横坐标, 吸光度值或荧光值为纵坐标制作标准曲线, 然后利用样品测定中吸光度值或荧光值, 计算样品中 Catalase 催化分解 H_2O_2 的量。根据 Catalase 酶活力定义: 在 pH7.0、25°C 条件下每分钟催化 $1\mu\text{mol}$ H_2O_2 分解的 Catalase 酶活力为 1U, 计算样品中 Catalase 酶活力。通过荧光法测定 H_2O_2 标曲和 Catalase 标曲结果如下图所示:



注意事项:

1. 初次使用试剂盒时, 小体积液体试剂请适当离心后使用。
2. 实验过程中, 除裂解液、检测缓冲液和过氧化氢溶液外, 其它试剂请置于冰上。
3. 严格控制反应的温度和反应时间, 样品中酶活力过低时, 可适当延长反应时间。
4. H_2O_2 标准曲线和 Catalase 对照只需测定 1 次即可。
5. 本产品仅限专业人员用于科学研究, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品。

储存条件:

-20°C 储存, 有效期 12 个月。



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