

## 过氧化氢酶（CAT）活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PMHA2-M48	过氧化氢酶(CAT)试剂盒	48T	微量法
PMHA2-M96		96T	

### 一、测定意义

几乎所有的生物机体都存在过氧化氢酶。其普遍存在于能呼吸的生物体内，主要存在于植物的叶绿体、线粒体、内质网、动物的肝和红细胞中，在细胞中促进过氧化氢分解,使其不会进一步产生毒性很大的氢氧自由基,从而保护抗氧化酵素系统的功能作用,对于人体的生长发育和代谢活动亦具有重要意义。

### 二、测定原理

过氧化氢酶（Catalase）能够分解  $H_2O_2$ ，通过加入过量的钼酸铵而迅速中止，剩余的  $H_2O_2$  与钼酸铵反应生成淡黄色的络合物，在 405nm 处测定其变化量，可计算出 CAT 的活力。

### 三、试剂组成

试剂名称	试剂装量(48T)	试剂装量(96T)	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 120mL×1 瓶	4℃ 保存
试剂一	液体 30mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	4℃ 保存
试剂二	液体 3mL×1 瓶	液体 6mL×1 瓶	4℃ 保存
试剂三	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×2 瓶	4℃ 保存
	试剂三配制：用时加 30mL 水完全溶解，4℃ 保存一个月		
标准品 (1mol/L)	液体 1mL×1 瓶	液体 1mL×1 瓶	4℃ 保存

### 四、操作步骤

#### 样本前处理

取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，按照组织质量(g)：提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液），旋涡混匀抽提 3-5 分钟或者使用组织破碎仪冰浴提取，8000g，4℃ 离心 10min，取上清，置冰上待测。

#### 测定步骤

- 1、酶标仪/分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 405nm，蒸馏水调零。
- 2、测定前将试剂一、试剂二 37℃ 温浴 10min 以上。
- 3、操作表

	对照管	测定管
--	-----	-----

粗酶液 (mL)		0.02
试剂一 (mL)	0.2	0.2
试剂二 (mL)	0.02	0.02
混匀, 37°C准确反应 10 分钟		
试剂三 (mL)	0.2	0.2
粗酶液 (mL)	0.02	

混匀, 吸取 200 $\mu$ L 显色液于 96 孔板或者微量比色皿中, 405nm 波长, 测定各管吸光度值。  $\Delta A = A_{\text{对照管}} - A_{\text{测定管}}$ 。

## 五、过氧化氢酶活性计算

以吸光度值为横坐标, 过氧化氢浓度为纵坐标, 绘制标准曲线。过氧化氢的标准曲线  $y = 12.025x + 0.0209$ ,  $x$  为吸光度值,  $y$  为过氧化氢浓度 ( $\mu\text{mol/mL}$ ),  $R^2=0.9999$ ;

(1) 按样本蛋白浓度计算

单位定义: 每毫克组织蛋白每分钟分解 1 $\mu\text{mol}$  的  $\text{H}_2\text{O}_2$  的量为一个活力单位。

计算公式:  $\text{CAT (U/mgprot)} = (\Delta A \times 12.025 + 0.0209) \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T = 2.2 \times (\Delta A \times 12.025 + 0.0209) \div \text{Cpr}$

(2) 按样本鲜重计算

单位定义: 每克组织每分钟分解 1 $\mu\text{mol}$  的  $\text{H}_2\text{O}_2$  的量为一个活力单位。

计算公式:  $\text{CAT (U/g 鲜重)} = (\Delta A \times 12.025 + 0.0209) \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 2.2 \times (\Delta A \times 12.025 + 0.0209) \div W$

$V_{\text{反总}}$ : 反应体系总体积, 0.44mL;

$V_{\text{样}}$ : 加入样本体积, 0.02mL;

$V_{\text{样总}}$ : 加入提取液体积, 1 mL;

T: 反应时间, 10min;

Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL;

W: 样本质量, g;

## 六、注意事项

- 1、样本测试前请选取 2 个预期差异最大的样本, 稀释成不同浓度进行预试, 以选取最佳取样浓度;
- 2、若对照孔 OD 值减去测定孔 OD 值高于 0.4 时, 可将样本用提取液进行稀释, 计算时乘以相应的稀释倍数即可; 若测定孔 OD 值减去对照孔 OD 值低于 0.01 时, 可以增加样本取样量或者取样浓度。
- 3、过氧化氢的标准曲线不同操作条件下, 可能存在差异。可以自行按照附录 I 进行相关检测。

## 七、公司介绍

陌凡生物科技有限公司是一家专业从事转基因检测、食品安全以及动植物疫病检测为核心业务的生物科技公司。能够为客户提供动植物疫病检测试剂、小分子抗原抗体、植物激素、植物抗体、重组蛋白等优质产品。自主研发了涵盖分子生物学、细胞生物学、免疫学、生物医学等领域的各种试剂盒。产品覆盖面广, 品质可靠。