

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-C24	过氧化氢酶(CAT)试剂盒	24T	常量法
PMHA2-C48		48T	常量法

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H₂O₂，通过加入过量的钼酸铵而迅速中止，剩余的H₂O₂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(24T)	试剂装量(48T)	保存条件
提取液	液体 30mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 35mL×1 瓶	液体 70mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 3.5mL×1 瓶	液体 7mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×2 瓶	2-8℃保存
试剂三的配制： 用时加 35mL 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	2-8℃保存

四、操作步骤：

样本前处理

1、组织：按照组织质量(g) : 提取液(mL)为 1:10 的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆。5000 rpm, 4℃ 离心 10 min，取上清置冰上待测。

2、细菌/细胞：按照细胞数量(10⁴ 个) : 试剂一体积(mL)为 500~1000:1 的比例（建议 500 万细胞加入 1mL 提取液），冰浴超声波破碎

细胞（功率 200W，超声 3 秒，间隔 7 秒，总时间 5min）；然后 10000g, 4℃ 离心 10min，取上清置于冰上待测。

3、血清（浆）等液体样本：直接测定。若有浑浊请离心后取上清待测。

测定步骤

- 1、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，标准曲线详见附录I。

3、操作表（离心管中加入以下试剂）

试剂名称	对照管	测定管
粗酶液 (μL)	-	50
试剂一 (μL)	500	500
试剂二 (μL)	50	50
混匀，37℃准确反应 10 分钟		
试剂三 (μL)	500	500
粗酶液 (μL)	50	-
混匀，取 1mL 于石英比色皿中，在 405nm 处，双蒸水调零，分光光度计测定各管吸光度值，分别记为 A _{测定} 、A _{对照} 。计算 ΔA=A _{对照} - A _{测定} 。		

五、过氧化氢酶活性计算：

1、标准曲线的制备：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 x 为吸光度值，y 为过氧化氢浓度 (μmol/mL)；将 ΔA 带入标准曲线计算出样本中过氧化氢浓度 y (μmol/mL)。

2、血清样本CAT计算

单位定义：每毫升血清每分钟分解 1 μmol 的 H₂O₂ 的量为一个活力单位。

计算公式：CAT (U/mL) = y × V_{反总} ÷ V_样 ÷ T = 2.2 × y

3、组织、细胞样本CAT计算

(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 H_2O_2 的量为一个活力单位。

计算公式: $\text{CAT} (\text{U/mg prot}) = y \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times \text{Cpr}) \div T$

$$= 2.2 \times y \div \text{Cpr}$$

(2)按样本鲜重计算

单位定义: 每毫克组织蛋白每分钟分解 $1\mu\text{mol}$ 的 H_2O_2 的量为一个活力单位。

计算公式: $\text{CAT} (\text{U/g}) = y \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T$

$$= 2.2 \times y \div W$$

(3) 按照细菌或细胞数量计算

单位定义: 每1百万个细菌或细胞每分钟分解 $1\mu\text{mol}$ 的 H_2O_2 的量为一个活力单位。

计算公式: $\text{CAT} (\text{U}/10^6 \text{ cell}) = y \times V_{\text{反总}} \div (5 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T$

$$= 0.44 \times y$$

$V_{\text{反总}}$: 反应体系总体积, 1.1mL; $V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.05mL;

$V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1 mL; T: 反应时间, 10min; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/mL; 5: 细胞/细菌数, 500万; W: 样本重量, 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 ΔA 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 ΔA 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。

附录I 过氧化氢标准曲线的制备

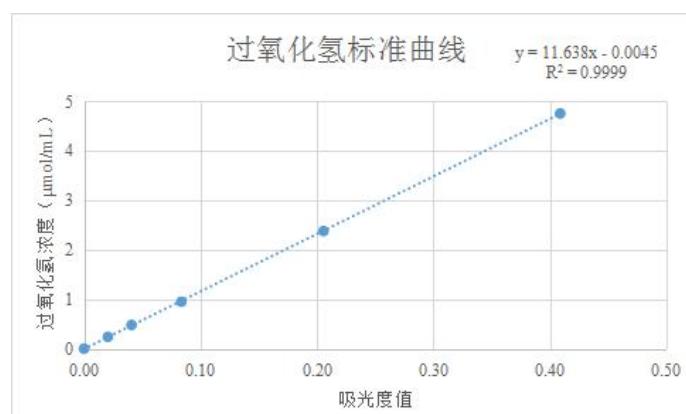
1、前处理:

将1mol/L的标准品用蒸馏水稀释成0、5、10、20、50、100 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 标准液进行标准曲线的制备。

2、操作表:

标准品浓度 ($\mu\text{mol}/\text{mL}$)	0	5	10	20	50	100
试剂一 (mL)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
标准品 (mL)	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
试剂三 (mL)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
测定吸光度值	0.0398	0.0603	0.0806	0.1234	0.2454	0.4486
绝对吸光度值	0	0.0205	0.0408	0.0836	0.2056	0.4088
过氧化氢终浓度 ($\mu\text{mol}/\text{mL}$)	0	0.24	0.48	0.95	2.38	4.76

过氧化氢终浓度为纵坐标, 绝对吸光度值为横坐标, 拟合标准曲线。



【厂家信息】

生产企业: 南京陌凡生物科技有限公司

地址: 南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期: 2025 年 4 月 7 日

修改日期: 2025 年 4 月 7 日