植物过氧化氢酶（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（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

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、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

	对照管	测定管
粗酶液（mL）		0.05
试剂一（mL）	0.5	0.5
试剂二（mL）	0.05	0.05
混匀，37℃准确反应 10 分钟		
试剂三（mL）	0.5	0.5
粗酶液（mL）	0.05	
混匀，0.5cm 光径比色皿，405nm波长，双蒸水调零，分光光度计测定各管吸光度值。$\Delta A=A_{对照管}-A_{测定管}$。		

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。将ΔA带入标准曲线计算出样本中过氧化氢浓度y（μmol/mL）；

2、样本中过氧化氢酶活性测定：

(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1μmol的H_2O_2的量为一个活力单位。

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

＝$2.2 \times y \div Cpr$

（2）按样本鲜重计算

单位定义：每克组织每分钟分解1μmol的H_2O_2的量为一个活力单位。

计算公式：CAT（U/g）＝$y \times V_{反总} \div (W \times V_{样} \div V_{样总}) \div T = 2.2 \times y \div W$

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

$V_{样总}$：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。

附录I　过氧化氢标准曲线的制备

1、前处理：

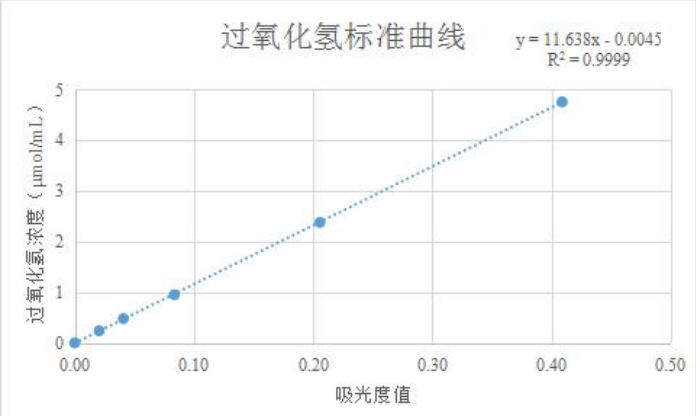
将1mol/L的标准品用蒸馏水稀释成0、5、10、20、50、100 μmol/mL标准液进行标准曲线的制备。

2、操作表：

过氧化氢浓度（μmol/mL）	0	5	10	20	50	100
试剂一（mL）	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
不同浓度过氧化氢（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（μmol/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