

天
净
沙
系
列

CAT#:7-01034
低温运输和保存

BINGENE

过氧化氢酶活性测定试剂盒
(240nm 分光光度法)

使用手册 V1.0

江苏天净沙基因诊断技术有限公司

网址: www.bingene.com; 电话: 400-6005850; 电邮: order@bingene.com

产品及特点	过氧化氢酶（Catalase，CAT，EC1.11.1.6）广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中，是细胞内最主要的 H₂O₂ 清除酶，在活性氧清除系统中具有重要作用。因此快速准确地检测过氧化氢酶的活性具有重要的意义。本试剂盒为满足此需求而开发。其原理是过氧化氢酶能够分解 H₂O₂，反应式如下： $2\text{H}_2\text{O}_2 \xrightarrow{\text{Catalase}} 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$ 而 H₂O₂ 在 240nm 下有特征吸收峰，故如果有过氧化氢酶存在，反应溶液 240nm 下的吸光度会随反应的进行而下降，最后可以根据吸光度的变化率计算出过氧化氢酶的活性。本产品的特点如下： 1. 即开即用，用户不用单独准备各种试剂。 2. 操作简单，加入样品到 1mL 比色皿中之后测定 1 分钟即可。 3. 适用于悬浮细胞、实体组织和液体样本等各种形态的样品。 4. 本试剂盒足够 100 次微量测定。 5. 本产品只能用于科研。																
规格及成分	本产品使用小扁盒包装 <table><tr><td>成份</td><td>编号</td><td>规格</td><td>包装</td></tr><tr><td>过氧化氢酶提取液</td><td>7-01034a</td><td>120mL</td><td>120 mL 本色瓶</td></tr><tr><td>过氧化氢酶反应液</td><td>7-01034b</td><td>120mL</td><td>120 mL 本色瓶</td></tr><tr><td>使用手册</td><td>7-01034sc</td><td>1 份</td><td>无</td></tr></table>	成份	编号	规格	包装	过氧化氢酶提取液	7-01034a	120mL	120 mL 本色瓶	过氧化氢酶反应液	7-01034b	120mL	120 mL 本色瓶	使用手册	7-01034sc	1 份	无
成份	编号	规格	包装														
过氧化氢酶提取液	7-01034a	120mL	120 mL 本色瓶														
过氧化氢酶反应液	7-01034b	120mL	120 mL 本色瓶														
使用手册	7-01034sc	1 份	无														
运输及保存	低温运输，2-8℃保存，有效期一年。																
自备物品	蒸馏水、荧光分光光度计，1mL 比色皿、待测样本																
使用方法	一、粗酶液提取： 1. 对细菌或培养细胞：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按每 500 万细菌或细胞加入 1mL 过氧化氢酶提取液的比例，加入过氧化氢酶提取液。超声波破碎冰浴中的细菌或细胞（功率 20%或 200W，超声 3 秒，间隔 10 秒，重复 30 次），然后 4℃8000×g 离心 10 分钟，收集上清置冰上待测。 2. 对组织样本：按照每 100mg 组织样品加入 1 mL 过氧化氢酶提取液的比例加入过氧化氢酶提取液，匀浆冰浴中的样品。4℃8000×g 离心 10 分钟，收集上清置冰上待测。 3. 对血清和血浆样品：不需要任何处理，直接检测。 二、测定步骤（正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定）																

	4. 将分光光度计预热 30 分钟以上, 调节波长至 240nm 处, 用蒸馏水调零。 5. 测定前将过氧化氢酶反应液放置在 37℃ (哺乳动物材料) 或 25℃ (其它物种材料) 水浴 10 分钟。 6. 在 1mL 石英比色皿中加入 35 uL 待测样本和 1 mL 过氧化氢酶反应液, 混匀, 立即室温下测定 240nm 下的初始吸光值 A1 和 1 分钟后的吸光值 A2, 计算$\Delta A=A_1-A_2$。 三、过氧化氢酶活性计算: 7. 按细胞数量计算过氧化氢酶活性 (适合细菌和细胞样本) 活性单位的定义: 每 1 万个细胞每分钟催化 1nmol H_2O_2 降解所需酶量。 计算公式: 过氧化氢酶活性 (nmol/分钟/10E4 细胞) = $[\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10E9] \div (\text{所用细胞数} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \div T = 1.356 \times \Delta A$ 计算参数: $V_{\text{反总}}$=反应总体积=1.035×10⁻³ L; ϵ=H_2O_2 摩尔消光系数=4.36×10E4 L/mol/厘米; d=比色皿光径=1cm, 细胞数=1 万个细胞的倍数=500; $V_{\text{样}}$=所测样本体积=35uL=0.035mL; $V_{\text{样总}}$=待测样本总体积=1 mL; T=反应时间 1 分钟。 8. 按蛋白浓度计算过氧化氢酶的活性 (适合所有种类样本) 活性单位的定义: 每 mg 组织蛋白每分钟催化 1nmol H_2O_2 降解所需酶量。 计算公式: 过氧化氢酶活性 (nmol/分钟/mg 蛋白) = $[\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10E9] \div (V_{\text{样}} \times \text{样本蛋白浓度}) \div T = 678 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$ 计算参数: C_{pr}=样本蛋白浓度 (单位 mg/mL), 其余同第 7 步。 9. 按样本鲜重计算过氧化氢酶的活性 (适合实体组织) 活性单位的定义: 每克组织每分钟催化 1nmol H_2O_2 降解所需酶量。 计算公式: 过氧化氢酶活性 (nmol/分钟/克鲜重) = $[\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10E9] \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T = 678 \times \Delta A \div W$ 计算参数: W=样本质量 (单位克), 其余同第 7 步。 10. 按样本体积计算过氧化氢酶活性 (适合血清和血浆样本) 单位的定义: 每毫升血清 (浆) 每分钟催化 1nmol H_2O_2 降解所需酶量。 计算公式: 过氧化氢酶活性 (nmol/min/mL) = $[\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样}} \div T = 678 \times \Delta A$ 计算参数: 同第 7 步。
关联产品	乳酸脱氢酶活性测定试剂盒