

过氧化氢酶（CAT）活性检测试剂盒（快速）

检测意义及原理：

过氧化氢（ H_2O_2 ）是由分子氧代谢产生的活性氧类物质，它可以直接或间接地氧化细胞内核酸、蛋白质、脂类等生物大分子，使细胞遭受损害，从而加速细胞的衰老和解体。异常的过氧化氢产生将通过激活NF- κ B等因子导致细胞氧化损伤，使得机体出现哮喘、动脉粥样硬化、炎症性关节炎、骨质疏松症和神经退行性疾病等许多疾病。而过氧化氢酶（Catalase, CAT）是分解过氧化氢的主要分子，从而保护机体细胞稳定的内环境及细胞的正常功能；因而测定过氧化氢酶活性具有重要临床意义。

本试剂盒采用紫外比色法在酶标板上操作，标准品和待测样品中的过氧化氢酶与显色液发生反应，在231nm处测OD值，过氧化氢酶含量与OD值成反比，可通过绘制标准曲线求出样品中过氧化氢酶活性。

试剂盒特点：

- 线性范围宽：**本试剂盒采用最新方法改良配方，可以检测到高达36KU/L的过氧化氢酶。
- 简单快速：**室温条件，30min内即可完成。
- 大通量操作：**本试剂盒反应敏感度适中，实验结果稳定，不会出现因为1~2min之时间差导致前后加样各组实验结果变化很大的情况。因此可一批次操作多个样本，从而提升实验效率。

试剂盒组分：（保存：2-8℃避光，有效期：12个月）

名 称	规格（48 T）	规格（96 T）
紫外微孔板	8×6条	8×12条
过氧化氢酶标准品	1支	1支
提取液	50mL	100mL
底物液	25mL	50mL
反应液	150μL	300μL
产品说明书	1份	1份

本试剂盒适用于血清、血浆、组织匀浆、细菌、细胞培养上清及其它样本。

需要自备试剂和器材：

- 酶标仪、离心机、匀浆器、移液器、天平、制冰机及实验室常规仪器。
- 多种规格单通道移液器和 8 通道移液器。
- 不同规格的试管和离心管，加样槽、96孔板。
- 漩涡混匀器。
- 去离子水或蒸馏水。

标本收集：

- 组织标本：**将组织块用PBS漂洗干净，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）进行冰浴匀浆，10000g 4℃离心10min，取上清混匀后置冰上待测。



2. **细菌或细胞标本：**按细胞数量（10⁴个）：提取液体积（mL）为500~1000:1的比例（建议500万细胞加入0.5mL提取液）重悬浮细胞，冰浴超声波破碎细胞（功率300w，超声3秒，间隔7秒，总时间3min）；10000g 4℃离心10min，取上清液置冰上待测。
3. **血清等液体标本：**应使用一次性的无热原，无内毒素试管（EDTA、柠檬酸盐、肝素抗凝均可），血清、血浆避免使用溶血，高血脂标本，标本悬浮物应离心去除，使标本清澈透明，液体样品直接检测。

备注：待测样本应尽早检测，2-8℃保存48小时；更长时间须冷冻（-20℃或-80℃）保存，避免反复冻融。

试剂准备：

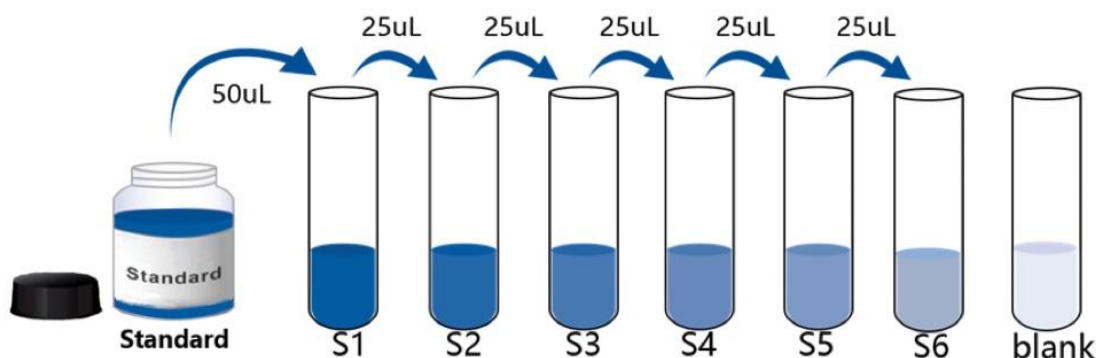
1. 标准品的配置：

A, **过氧化氢酶标准液配制：**吸取1μL过氧化氢酶标准品，加入到990μL提取液中，混匀即得36KU/L过氧化氢酶标准工作液。

注意：每次实验，请使用新配制的标准品工作液；配制好的标准品工作液需要在1h之内使用。

B, **标准液浓度梯度配制：**取7个1.5mL离心管，分别标注S1, S2, S3, S4, S5, S6, blank。S2, S3, S4, S5, S6, blank这六管中各加入提取液25μL；第一管S1中加入过氧化氢酶标准工作液50μL，置于漩涡混合器上混匀后用加样器吸25μL移至第二管，如此反复作对倍稀释至第六管，blank为空白对照。

C, 标准品浓度分别为：36、18、9、4.5、2.25、1.125、0KU/L。



注意：1，样品在什么溶液中，标准品也需用什么溶液稀释，这样可以减小误差。

2，初次测定后知道样品的浓度范围后，可以对标准品在样品浓度范围附近密集测定。

2. **显色液的配置：**将底物液和反应液以199:1混合，混匀即得显色液（每1个样本管分别需要底物液和反应液497.5和2.5μL）。

检测程序：

1. **加待测样本：**将配制好的标准液及待测样品各取25μL加入到1.5mL离心管中。
2. **加显色溶液：**每个标准液及待测样品离心管内加入显色液500μL，混匀。
3. **孵育及读数：**将上述标准液及待测样品离心管室温静置20min，每管吸取100μL到紫外酶标板中，然后在231nm处读OD值。

结果判断与计算：

1. 所有OD值建议减除空白孔值后再进行计算，如空白孔OD低于0.1，也可以直接计算。



2. 以标准品浓度作横坐标，OD值作纵坐标，手工绘制或用软件绘制标准曲线，根据样品OD值计算出相应含量，再乘以稀释倍数即可。

注意事项

1. 请自备1.5mL离心管及离心管架等常规检测设备及仪器。
2. 正式测定之前选择2~3个预期差异大的样本做预测定，以熟悉实验流程。
3. 检测时所有试剂都要恢复到室温，试剂盒开封后剩余试剂放回袋中1个月内用完。
4. 实验前请认真仔细阅读此说明书，说明书以试剂盒内纸质版为准。
5. 将溶液吸取到紫外酶标板中时，注意排出气泡，以免影响测定结果。
6. 本试剂盒仅用于科研，不能用于临床诊断！
7. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性口罩和手套操作。

